

Université de La Réunion
Ecole doctorale Sciences, Technologies et Santé
ED N°542
UMR Peuplements Végétaux et Bio-agresseurs en Milieu Tropical
CIRAD - Université de La Réunion

Habilitation à Diriger des Recherches

Dossier présenté par

Jean-Michel LETT

Diversité, Evolution et Emergence des phytovirus à transmission vectorielle : La chronique des géminivirus

Soutenu le 11 septembre 2014, devant le jury composé de :

BLANC Stéphane	Directeur de Recherche, INRA, Montpellier	Rapporteur
CANDRESSE Thierry	Directeur de Recherche, INRA, Bordeaux	Rapporteur
FAUQUET Claude	Chercheur HDR, CIAT, Colombie	Rapporteur
POUSSIER Stéphane	Professeur, Université de La Réunion	Evaluateur
REYNAUD Bernard	Chercheur HDR, CIRAD Réunion	Evaluateur

« Connaître son adversaire pour mieux le combattre »
L'Art de la Guerre – Sun Tzu

A la mémoire de nos compagnons de route,
Vincent Judais et Laurent Brient

Remerciements

“La reconnaissance est la mémoire du coeur.”

Hans Christian Andersen

Je tenais à commencer cet exercice difficile par les fautifs, ceux qui m’ont donné une chance, l’occasion de devenir chercheur et guidé mes premiers pas de jeune novice : Michel Dron, Claire Neema, Denis Fargette, Bernard Reynaud et Michel Peterschmitt. Malgré mes origines universitaires et quelques années d’école buissonnière, Michel Dron et Claire Neema m’ont fait confiance et accueilli dans leur DEA de Phytopathologie de l’INA P-G-Paris XI. Denis Fargette m’a donné l’opportunité de faire mes premières armes en phytovirologie et je l’en remercie. Malgré mon humour militaire et mes très nombreuses facéties, Bernard Reynaud m’a supporté pendant toutes ces années et m’aura laissé toutes libertés pour créer une *BegomoTeam* et chasser les bégomovirus en Afrique. En plus de sa rigueur alsacienne, Michel Peterschmitt a réussi à me transmettre son enthousiasme scientifique qu’il a réussi à conserver toutes ces années et que j’espère avoir su transmettre à mes étudiants.

Cette HDR est avant tout l’œuvre de la *BegomoTeam* de La Réunion. En premier, je voudrais remercier mes lieutenants Florence Naze, Murielle Hoareau et Martial Grondin. C’est avec Florence aux commandes, que j’ai initié notre activité de caractérisation moléculaire des bégomovirus et essuyé de nombreuses escarmouches de 2002 à 2006, avant son départ pour d’autres combats. Notre activité au laboratoire a été reprise de plus belle par Murielle qui est devenu à la fois la mascotte et le rayon de soleil de l’équipe. Nos expérimentations biologiques n’auraient pu voir le jour sans l’appui technique de notre Martial, seul capable de courir les parcelles à la recherche de symptômes viraux, d’élever et de prendre soin de nos plantes et insectes vecteurs. Je tenais à les remercier vivement pour leur gentillesse, leur amitié et leur appui technique efficace et sans faille.

En second, je voudrais remercier mes étudiants et notamment mes doctorants, tous de très grande qualité, avec qui j’ai toujours partagé des moments forts et dont la plupart sont devenus mes collègues de travail et mes amis. Dans l’ordre chronologique, je voudrais remercier Hélène Delatte avec qui j’ai initié notre activité bégomovirus. De par son énergie débordante, elle aura mené un combat sur tous les fronts sans jamais montrer de signes de faiblesse. Un immense merci à Pierre Lefeuvre qui malgré un financement de thèse acquis dans une équipe métropolitaine a accepté de couper sa queue de cheval, de rentrer dans le rang et de venir tenter sa chance avec la *begomoteam* sur l’île intense. Sa vivacité d’esprit, son efficacité dans son travail et son

obstination à vouloir décrypter la sexualité des géminivirus, ont été des éléments décisifs dans l'émergence de notre équipe et ont donné lieu à de nombreux faits d'armes, qui se sont soldés par des publications prestigieuses. En plus de pouvoir poursuivre notre aventure ensemble, j'ai la chance de le compter parmi mes amis. J'ai eu l'honneur d'encadrer trois thèses avec des étudiants africains. L'aventure africaine a commencé par Fidèle Tiendrébéogo avec qui j'ai eu le grand plaisir de découvrir les bégomovirus d'Afrique de l'Ouest. Son acharnement au travail, ses compétences scientifiques et ses qualités humaines ont permis à la fois d'investir de nombreuses places fortes et de sceller une grande amitié. Au cours de sa thèse, Mireille Harimalala a montré une volonté de fer. A chaque nouvelle épreuve, elle nous a agréablement surpris et impressionné par sa force tranquille et son efficacité. Je la remercie notamment de m'avoir fait découvrir Madagascar, son magnifique pays, lors de nos différentes expéditions. Innocent Zinga nous a fait partager sa passion pour le manioc et ses compétences de meneur d'Hommes. Avec Frédéric Péréfarres, nous nous sommes notamment intéressé à débusquer le cœur de la thèse, en suivant la voie du bushido. Comme un troupe de marine, Frédéric a fait preuve de beaucoup de courage en menant le combat sur plusieurs fronts. Merci de nous avoir fait profiter de tous ces moments intenses. Malgré de nombreuses embûches, défection inopinée de la bourse régionale, soucis de santé, absence de bourse de thèse en troisième année, Alexandre De Bruyn a réussi à rebondir, à acquérir de la maturité, et à gagner cette grande bataille. Je tenais également à remercier mes volontaires civils à l'aide technique, Magali Thierry (Choupette) et Julie Villemot, et tous mes étudiants de master, dont certains comme Emilie Villar et Loup Rimbaud continuent à chasser les virus.

Je voudrais remercier mes collègues qui ont directement œuvré dans l'encadrement de nos étudiants et tout particulièrement notre général en chef de la statistique, le magicien de R, le pourfendeur des *p-values*, Frédéric Chiroleu. Sans son aide précieuse et incontournable, nous n'aurions pu mener à bien la plupart de nos combats, dont certains en milieu hostile, nous ont demandé beaucoup d'énergie et de courage. Je l'en remercie vivement. J'adresse également toute ma sympathie à Jacques Dintinger, plus connu sous le nom de Jacky de la Meinau, pour nos nombreux moments d'humour en alsacien. Une grande partie de ce travail est le fruit d'une collaboration interarmées, riche et efficace, avec mes collègues de l'Université du Cap, Darren Martin et Arvind Varsani, et de l'INRA de Montpellier, Gaël Thébaud. Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude à Stéphane Blanc, Claude Fauquet et Benoit Moury pour avoir accepté d'évaluer et d'encadrer notre activité au cours de ces nombreuses années.

Enfin, je remercie du fond du cœur mes parents, mes enfants, Julie et Matisse, et ma Princesse Andalouse pour leur soutien et leur Amour.

Sommaire

Avant propos

Chapitre 1 : Présentation générale

1. Curriculum vitae	1
2. Activités d'enseignement et de formation	3
3. Animation de la recherche	8
4. Activité d'expertise terrain	9
5. Production scientifique	10

Chapitre 2 : Document de synthèse

1. Introduction	20
2. Le modèle des géminivirus	25
3. Les vecteurs de virus, complices malgré eux des émergences virales	30
3.1. Comportement alimentaire d'une cicadelle vectrice du MSV	30
3.1.1. Acquisition virale : Ingestion massive de particules virales à partir des cellules non phloémiennes	30
3.1.2. Inoculation virale : phase de salivation dans le phloème	31
3.2. Dynamique du virus dans son insecte vecteur	32
3.2.1. Les barrières à la transmission circulante	32
3.2.2. Accumulation forte de l'ADN viral dans le vecteur	33
3.2.3. Conservation de l'ADN viral dans l'épithélium intestinal et les glandes salivaires	35
3.2.4. Préservation des pseudo-particules virales dans les cellules de l'épithélium intestinal	35
3.2.5. Taille du goulot d'étranglement induit par un insecte vecteur	36
3.2.6. Relation entre accumulation virale dans la plante et efficacité de transmission par insecte : peut-être pas aussi simple ...	37

4. Emergence de nouvelles maladies virales : Invasions biologiques et changements d'hôte	39
4.1. Déplacement à longue distance et changement des populations de vecteurs	39
4.2. Dissémination virale	41
4.2.1. <i>La chronique du TYLCV en campagne à La Réunion : une expérience grandeur Nature</i>	41
4.2.2. <i>La chronique des CMGs en campagne aux Comores, aux Seychelles et à Madagascar</i>	44
4.2.3. <i>La chronique du TYLCV à la conquête du Monde</i>	47
4.3. Introduction en Afrique de plantes hôtes exotiques sensibles aux géminivirus : émergence par saut d'hôte	49
4.3.1. <i>La chronique de la striure du maïs en Afrique</i>	49
4.3.2. <i>La chronique de la maladie de l'enroulement foliaire des solanées dans les îles SWIO</i>	53
4.3.3. <i>La chronique de la maladie de la mosaïque du manioc en Afrique</i>	55
5. Origine de la diversité et associations complexes : plasticité génomique	57
5.1. Recombinaison et pseudo-recombinaison : moteur de l'évolution des géminivirus	57
5.2. Recombinaison et évolution des géminivirus : forces et contraintes	61
5.3. Associations complexes de malfaiteurs	65
5.3.1. <i>Synergie inter-espèces et symptômes sévères</i>	65
5.3.2. <i>Associations des bégomovirus avec des ADN satellites</i>	67
6. Perspectives	70
Bibliographie	75

Avant propos

“ Garder notre don d’émerveillement face au Vivant. “

Jacques Barthélémy, Passeur de Sciences

A l’aube de ma quatorzième année d’activité en tant que chercheur en entomo-phytovirologie, la préparation de ce document m’impose de faire le point sur mes activités de recherche et les connaissances acquises, et de prendre un peu de recul.

La virologie végétale m’a été dévoilée en automne 1994. En effet, jeune militaire démobilisé en quête d’un avenir, je me suis retrouvé au gré des rencontres en licence de phytoprotection à l’Université d’Avignon. De retour sur les bancs de l’école, le « virus » de la phytovirologie tropicale m’a été inoculé grâce aux cours de virologie végétale pratiqués à l’époque par Hervé Lecoq et à mon stage de licence réalisé en 1995 sur la station Ligne Paradis du Cirad à l’île de La Réunion. Face à de telles sirènes et malgré une certaine expérience dans le corps à corps, le sort en était jeté !

Les connaissances scientifiques, que l’équipe « bégomo » a produit au cours de ces années, sont avant tout le fruit du travail exemplaire mené par de nombreux doctorants et étudiants de grandes qualités, d’une collaboration fructueuse avec différents partenaires du Nord et surtout du Sud, et des nombreuses personnes accueillies au laboratoire ou rencontrées sur le terrain, en quête de savoir et de vérité.

Mon activité d’expertise sur le terrain m’a permis d’être en contact avec la population paysanne des pays du Sud, d’être confronté à leur désespoir face aux contraintes sanitaires qui affectent leurs cultures et comme mes illustres prédécesseurs de faire partie des derniers virologues de « terrain » et d’avoir le sentiment d’avoir contribué, à mon échelle, à améliorer leurs conditions de vie. Ma démarche de virologue « pionnier », qui se penche sur un agroécosystème avec une panoplie de nouvelles techniques issues de la biologie moléculaire, m’a donné l’opportunité de caractériser une multitude de nouvelles espèces virales. Cette activité passionnante m’a offert et m’offre toujours de goûter au bonheur des premiers naturalistes et taxonomistes : la description du Monde Vivant.

Chapitre 1

Présentation Générale

1- Curriculum vitae

Jean-Michel LETT

Né le 08 septembre 1970 à Bitche (Moselle)
Nationalité française
Marié deux enfants

Adresse professionnelle :
CIRAD-UMR PVBMT
Pôle de Protection des Plantes
7 Chemin de l'IRAT
97410 Saint-Pierre
Ile de La Réunion
Tél : 02.62.49.92.34
Email : jean-michel.lett@cirad.fr



Cursus

- 2000** : **Thèse de Doctorat en Science**, option Phytopathologie, obtenue avec la mention très honorable et les félicitations écrites du jury à l'AgroParisTech (ex-Institut National Agronomique de Paris-Grignon).
- 1997** : **D.E.A. de Biologie, Diversité et Adaptations des Plantes Cultivées**, option Phytopathologie, obtenue avec mention assez bien à l'AgroParisTech (ex-Institut National Agronomique de Paris-Grignon).
- 1996** : **Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes**, option Génétique et Evolution, obtenue avec mention assez bien à l'Université de Montpellier.
- 1995** : **Licence de Phytoprotection** obtenue avec mention assez bien à l'Université d'Avignon.
- 1991** : **D.U.T. de Biologie Appliquée**, option Agronomie à l'I.U.T. Louis Pasteur de l'Université de Strasbourg, axé principalement sur l'amélioration variétale, la génétique et la culture cellulaire.

Expériences professionnelles

- Depuis 2001** : Entomo-Phytovirologue au **Pôle de Protection des Plantes du CIRAD** de l'île de la Réunion (UMR PVBMT).
- 2000** : 3 ans de thèse au **CIRAD de Montpellier** avec M. Michel PETERSCHMITT, phytovirologue, et au **Pôle de Protection des Plantes du CIRAD de La Réunion** avec M. Bernard REYNAUD, entomologiste, sur la transmission du *Maize streak virus* par *Cicadulina mbila* sur maïs : comportement alimentaire de la cicadelle et dynamique du virus dans le vecteur.
- 1997** : 6 mois de stage de D.E.A. à l'**IRD** de Montpellier avec M. Denis FARGETTE, phytovirologue, sur l'étude cytologique et moléculaire des mécanismes de la résistance du riz au *Rice yellow mottle virus*.
Mémoire et présentation devant jury. Mention : Bien.
- 1996** : 6 mois de stage de maîtrise au **CIRAD/LPRC** de Montpellier avec M. Michel PETERSCHMITT, phytovirologue, sur la caractérisation du comportement alimentaire de *Cicadulina mbila* par microscopie électronique corrélée à l'analyse effectuée en électropénétrographie.
Mémoire et présentation devant jury. Mention : Très Bien.
- 1995** : 4 mois de stage de licence au sein de l'équipe de recherche de M. Bernard REYNAUD, entomologiste au **CIRAD** de La Réunion, sur l'étude du comportement alimentaire de *Cicadulina mbila*, par électropénétrographie, en rapport avec sa capacité à transmettre le *Maize streak virus*.
Mémoire et présentation devant jury. Mention : Bien.

Distinction

- 1994** : Médaille de bronze de la Défense Nationale.

2- Activités d'enseignement et de formation

“ Aucun enfant ne franchit le seuil d'une école sans s'exposer au risque de se perdre ; je veux dire de perdre cette vie exubérante, avide de connaissances et d'émerveillements, qu'il serait si exaltant de nourrir, au lieu de la stériliser et de la désespérer sous l'ennuyeux travail du savoir abstrait. Quel terrible constat que ces regards brillants soudain ternis ! “
Raoul Vaneigem

Enseignement

Enseignement de Virologie Végétale et de Transmission Vectorielle :

- **Master de Biologie des Ecosystèmes Tropicaux (BEST)** de l'Université de la Réunion (Cours : 8h ; Terrain : 2h) [De 2006 à aujourd'hui].
- **Master de Sciences du Vivant** de l'Agro-Paris-Tech (Cours : 3h ; Terrain : 2h) [2006-2010]
- **Maîtrise de Sciences et Techniques (MST)**, mention Valorisation Chimique et Biologique du Végétal de l'Université de la Réunion (Cours : 4h ; Terrain : 2h) [De 2003 à 2005].

Formation « Lutte Biologique » contre les Aleurodes des Cocotiers aux Comores. Les mécanismes de transmission des phytovirus et les virus transmis par aleurodes, 13-22 Janvier 2004, Pôle de Protection des Plantes, La Réunion.

Formation « Diagnostic moléculaire et sérologique en virologie : exemple le TYLCV » dans le cadre du Plan Régional de Protection des Plantes du 25 octobre au 5 novembre 2004, Pôle de Protection des Plantes, La Réunion.

Accueils doctorants et chercheurs du Sud

▀ Doctorants

1. **Innocent ZINGA (Doctorant et Enseignant-chercheur Centrafrique)** dans le cadre de six accueils (24 mois cumulés), du 30 février au 29 avril 2008 financé par le projet CORUS2 (AIRD), du 8 août au 3 novembre 2009, du 4 mars au 30 juin 2010 financé par le MAEE, du 16 septembre au 15 décembre 2010 financé par le Cirad-DRS, du 1^{er} mars au 31 août 2011 financé par l'AIEA, du 10 mai au 25 décembre 2012 financé par le MAEE et le Cirad-DRS, sur le thème de la caractérisation moléculaire des agents viraux impliqués dans la mosaïque du manioc en République Centrafricaine.
2. **Fidèle TIENDREBEOGOO (Doctorant, Burkina Faso)** dans le cadre de deux accueils de deux et trois mois financés par la DRS-Cirad sur le thème : Caractérisation moléculaire des bégomovirus responsables de nouvelles maladies émergentes sur les cultures au Burkina Faso, du 3 octobre au 30 novembre 2008 et du 6 mai au 1^{er} août 2009.
3. **Adonise VALAM-ZANGO (Doctorante, Centrafrique)** dans le cadre d'un accueil de cinq mois financé par le réseau scientifique Protection des Végétaux en Afrique Centrale et de l'Ouest (ProVeg) sur le thème : Caractérisation moléculaire des bégomovirus responsables de la maladie de la mosaïque du manioc dans les six pays de la CEMAC, du 4 avril au 31 août 2014.

▄ Chercheurs

1. **Dr. Sahondra RANOMENJANAHARY (FOFIFA, Madagascar)** dans le cadre d'un accueil de deux mois financé par la DRS-Cirad sur le thème : Caractérisation moléculaire de la diversité génétique des bégomovirus responsables de la maladie de la mosaïque du manioc à Madagascar, 22 octobre au 15 décembre 2007.
2. **Dr. Arvind VARSANI (University of Cape Town, Afrique du Sud)** dans le cadre d'un accueil de deux semaines sur le thème de la caractérisation moléculaire de la diversité génétique des gémiovirus responsables de maladies émergentes sur les cultures vivrières et maraîchères en Afrique du 1er au 15 mai 2008.
3. **Dr Fidèle TIENDREBEOGOO (INERA, Burkina Faso)** dans le cadre d'un accueil Jeune Chercheur du Sud de trois mois et demi financé par la DRS-Cirad et l'Ambassade de France au Burkina Faso sur le thème : Caractérisation moléculaire des gémiovirus responsables de nouvelles maladies émergentes sur les cultures au Burkina Faso, du 3 septembre au 17 décembre 2011.
4. **Dr. Darren MARTIN (University of Cape Town, Afrique du Sud)** dans le cadre d'un accueil d'une semaine financé par le projet RUN-EMERGE et d'un workshop sur l'analyse et la détermination de la recombinaison, du 26 au 30 mars 2012.
5. **Dr Djodji ADJATA (Université de Lomé, Togo)** dans le cadre d'un accueil post-doctoral de deux mois et demi financé par la DRS-Cirad et l'Université du Togo sur le thème : Caractérisation moléculaire des bégomovirus responsables de maladies émergentes sur les cultures maraîchères et vivrières au Togo, du 2 octobre au 15 décembre 2012.
6. **Dr Seka KOUTOUA (Université de Nangui-Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire)** dans le cadre d'un accueil post-doctoral de quatre mois financé par la DRS-Cirad et l'Ambassade de France en Côte d'Ivoire sur le thème : Caractérisation moléculaire des bégomovirus responsables de maladies émergentes sur les cultures maraîchères et vivrières en Côte d'Ivoire, du 25 août au 15 décembre 2013.

Encadrement d'étudiants

▄ Licence

1. **Julien HOAREAU** 1er mai au 31 juillet 2007 de l'IUT de La Réunion dans le cadre de sa 2^{ème} année de DUT Génie Biologique sur le sujet intitulé : « Mise au point des conditions d'utilisation de la biolistique comme moyen d'inoculation des bégomovirus », 20p.
2. **Betty DIJOUX** du 1er mai au 31 juillet 2009 de l'IUT de La Réunion dans le cadre de sa 2^{ème} année de DUT Génie Biologique sur le sujet intitulé : « Etude du potentiel de recombinaison in vivo entre un bégomovirus exotique et invasif (TYLCV-Mld[RE]) et un bégomovirus indigène des îles du sud ouest de l'océan Indien (ToLCKMV-[YT-Dem]) », 19p.
3. **Indira DENNEMONT** du 11 avril au 29 juillet 2011 de l'IUT de La Réunion dans le cadre de sa 2^{ème} année de DUT Génie Biologique sur le sujet intitulé : « Etude de la cinétique d'accumulation virale du TYLCV au sein de son insecte vecteur *Bemisia tabaci* par PCR quantitative normalisée », 19p.
4. **Sohini CLAVERIE** du 1 juillet au 30 août 2013 de l'Université de La Réunion dans le cadre de son L3 de Biochimie sur le sujet intitulé : « Caractérisation moléculaire des bégomovirus responsables de maladies émergentes sur les cultures maraîchères et vivrières au Burkina Faso », 20p.

▣ Master 1

1. **Florelle GONNEAU** du 20 janvier au 20 mai 2003 de l'**Université de Montpellier II** dans le cadre de sa Maîtrise de Biochimie sur le sujet intitulé : « Identification du ou des motifs de la protéine de capsid du Maize streak virus (MSV, Geminiviridae) intervenant dans la spécificité de transmission, par une stratégie de mutagenèse dirigée », 20p.
2. **Laëtitia NUCCI** du 9 avril au 18 août 2003 de l'**IUP d'Agrosciences** de la faculté des Sciences d'Avignon dans le cadre de sa Maîtrise de Phytoprotection sur le sujet intitulé : « Etude de la persistance et de la dynamique du TYLCV à travers son insecte vecteur *Bemisia tabaci* », 23p.
3. **Laurent COUSTON** du 5 avril au 4 septembre 2004 de l'**IUP d'Agrosciences** de la faculté des Sciences d'Avignon dans le cadre de sa Maîtrise de Phytoprotection sur le sujet intitulé : « Etude de la persistance, de la dynamique et de la transmission transovarienne du TYLCV à travers son vecteur *Bemisia tabaci* », 22p.
4. **Laurent BRIENT** du 18 avril au 10 septembre 2005 de l'**Institut National d'Horticulture (INH)** d'Angers sur le sujet : « Mode de transmission du TYLCV-Mld[RE] et du TYLCV-IL[RE] par le biotype B de *Bemisia tabaci* : accumulation, persistance et test de la transmission transovarienne ».
5. **Geoffrey CARPENTIER** du 06 mars au 28 juillet 2012 de l'**Université Montpellier 2 (UM2)** sur la « Diversité génétique et phylogénie moléculaire des bégomovirus responsables de nouvelles maladies émergentes sur les plantes à Madagascar ».

▣ Master 2

1. **Emilie VILLAR** du 25 mars au 15 septembre 2005 du **Master-Pro de Génétique et de gestion de la Biodiversité** de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI) sur le sujet intitulé : « Caractérisation moléculaire et diversité génétique des bégomovirus responsables de la maladie de la mosaïque du manioc dans les archipels des Comores et des Seychelles ».
2. **Pierre LEFEUVRE** du 1^{er} avril 2005 au 31 mars 2006 du **DEA Adaptation des Plantes cultivées aux Contraintes Environnementales** de l'INA-PG dans le cadre d'un Volontariat Civil à l'Aide Technique financé par le Ministère de l'Outre-Mer sur un appel à projet sur le thème intitulé : « Les bégomovirus exotiques et endémiques des cultures maraîchères du sud-ouest de l'océan Indien : diversité génétique, risques épidémiologiques et mode de transmission ».
3. **Emmanuelle MAHE** du 1^{er} février au 15 septembre 2006 du **Master de Biotraçabilité, Biodétection et Biodiversité** de l'Université de Montpellier 2 sur le sujet intitulé : « La dynamique du TYLCV à travers son vecteur *Bemisia tabaci* : Etude de l'accumulation, de la persistance et de la transmission transovarienne ».
4. **Claire VINCENT** du 12 février au 2 septembre 2007 du **Master de Bio-Ressources en Régions Tropicales et Méditerranéennes** de l'Université de Paris XII sur le sujet intitulé : « Etude du potentiel de recombinaison entre le TYLCV-Mld[RE] et le ToLCYTV-[Dem] et évolution du TYLCV à l'île de La Réunion ».
5. **Mireille HARIMALALA** du 15 juin au 31 novembre 2009 du **Master de Biologie Végétale** de l'Université d'Antananarivo sur le sujet intitulé : « La maladie de la mosaïque du manioc à Madagascar : diversité génétique de l'agent pathogène et assainissement par thérapie ».
6. **Loup RIMBAUD** du 8 mars au 24 septembre 2010 de l'**AgroParisTech** dans le cadre du Diplôme d'Agronomie Approfondie sur le sujet intitulé : « Modélisation de la cinétique d'accumulation et de persistance du Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) au sein de son insecte vecteur *Bemisia tabaci* par PCR quantitative normalisée et enquête agronomique de l'impact du virus sur la filière tomate à La Réunion ».

7. **Alassane OUATTARA** du 1^{er} juillet au 31 octobre 2013 et du 4 juin au 30 septembre 2014 du **Master de Biologie Végétale** de l'Université de Ouagadougou sur le sujet intitulé : « Epidémiologie moléculaire des maladies émergentes à bégomovirus chez les cultures maraîchères au Burkina Faso ».

✦ Doctorat

1. **Hélène DELATTE** du 1^{er} juin 2001 au 15 juin 2005 de **l'Université de Wageningen (Hollande)** dans le cadre d'une thèse de doctorat en sandwich PhD entre l'université de Wageningen et l'Université de La Réunion sur le sujet « Study of the pathosystem: Begomovirus - Bemisia tabaci - Tomato on the South West islands of the Indian Ocean ». Thèse soutenue le 15 juin 2005 à l'Université de Wageningen. Chercheur en entomologie au CIRAD-UMR PVBMT de La Réunion depuis 2008.
2. **Pierre LEFEUVRE** du 1^{er} octobre 2005 au 31 septembre 2008 de **l'Université de La Réunion** dans le cadre d'une thèse de doctorat (co-encadrant) grâce à une allocation de recherche du ministère de la recherche sur le sujet : « Recombinaison et Emergence virale : le modèle des Begomovirus ». Thèse soutenue le 29 octobre 2008 à l'Université de La Réunion, avec la mention Très Honorable et les félicitations du jury. Chercheur en bioinformatique au CIRAD-UMR PVBMT de La Réunion depuis 2010.
3. **Fidèle TIENDREBEOGO** du 1^{er} novembre 2006 au 31 décembre 2009 de **l'Université de Ouagadougou (Burkina Faso)** dans le cadre d'une thèse de doctorat (co-encadrant) sur le sujet : « Caractérisation biologique, sérologique et moléculaire de quelques Begomovirus infectant les plantes maraîchères au Burkina Faso ». Thèse soutenue le 18 février 2010 à l'Université de Ouagadougou, avec la mention Très Honorable et les félicitations du jury. Chercheur en virologie à l'INERA à Ouagadougou depuis 2011.
4. **Frédéric PEREFARRES** du 1^{er} novembre 2008 au 31 décembre 2011 de **l'Université de La Réunion** dans le cadre d'une thèse de doctorat (co-encadrant) grâce à une Bourse Cirad, sur le sujet : « Contribution à l'étude des mécanismes de résistance de la tomate aux Begomovirus ». Thèse soutenue le 21 février 2012 à l'Université de La Réunion, avec la mention Très Honorable et les félicitations du jury. Chercheur en phytopathologie au sein de la société Enza Zaden en Hollande depuis 2013.
5. **Mireille HARIMALALA** du 1^{er} novembre 2009 au 31 décembre 2012 de **l'Université d'Antananarivo (Madagascar)** dans le cadre d'une thèse de doctorat (co-encadrant) grâce à une Bourse de Coopération Régionale, sur le sujet : « Diversité génétique, phylogéographie et épidémiologie moléculaire des bégomovirus responsables de la maladie de la mosaïque du manioc à Madagascar ». Thèse soutenue le 13 décembre 2012 à l'Université de La Réunion, avec les félicitations du jury. En post-doc à l'Institut Pasteur de Madagascar en virologie médicale.
6. **Innocent ZINGA** du 1^{er} novembre 2009 au 31 décembre 2012 de **l'Université de Bangui (Centrafrique)** dans le cadre d'une thèse de doctorat (co-encadrant) grâce à une Bourse du Gouvernement Français, sur le sujet : « La mosaïque Africaine du manioc en Centrafrique : épidémiologie, criblage variétal et assainissement ». Thèse soutenue le 14 décembre 2012 à l'Université de La Réunion, avec les félicitations du jury. Enseignant-chercheur titulaire à l'Université de Bangui.
7. **Alexandre De Bruyn** du 1^{er} novembre 2010 au 31 décembre 2014 de **l'Université de La Réunion** dans le cadre d'une thèse de doctorat (co-encadrant) grâce à une bourse de recherche du Conseil Général de La Réunion et du Cirad sur le sujet : « Emergence, évolution des populations virales et impact de la variabilité de l'hôte : le modèle des bégomovirus africains ».



✦ Volontariat Service Civil

Pierre LEFEUVRE, DEA Adaptations des Plantes Cultivées aux Contraintes Environnementales, INA-PG / Paris XI, a réalisé 6 mois de volontariat service civil (1^{er} avril 2005 au 30 septembre 2011) dans le cadre du projet de recherche intitulé « Diversité génétique des bégomovirus indigènes du sud-ouest de l'océan Indien » financé par le Ministère de l'Outre-Mer.

Magali THIERRY, Master 2 Contrôle et conservation des populations d'insectes de l'Université de Tours, a réalisé 19 mois de volontariat service civil (1^{er} avril 2006 au 31 octobre 2007) dans le cadre du projet de recherche intitulé « Diversité et Histoire Evolutive des populations de Geminivirus dans les îles de l'océan Indien ».

Julie VILLEMOT, Master 2 Technologies du Végétal et Productions Spécialisées, option Biotechnologies à Angers, a réalisé 24 mois de volontariat service civil (1^{er} mars 2009 au 31 février 2011) dans le cadre du projet Emergence des Geminivirus financé par le CRVOI sur le sujet de recherche intitulé « Diversité et Histoire Evolutive des populations de Geminivirus dans les îles de l'océan Indien ».

✦ Jury de thèse

Examineur invité à la soutenance de thèse de doctorat de **Fidèle TIENDREBEOGO** à l'**Université de Ougadougou (Burkina Faso)**, soutenue le 18 février 2010 et intitulée « Caractérisation biologique, sérologique et moléculaire de quelques bégomovirus infectant les plantes maraîchères au Burkina Faso ». Thèse obtenue avec la mention Très Honorable et les félicitations du jury.



3- Animation de la recherche

Evaluation de la recherche

Reviewing pour les journaux suivants :

Advances in Virology, Archives of Virology, Journal of Phytopathology, Phytopathology, Plant Disease, Plant Pathology, Tropical, Virology Journal, Virus Research.

Evaluation de projets :

ANR

Animation et administration de la recherche

Projets de recherche :

- Coordination du projet intitulé « Plantes hôtes réservoirs des bégomovirus indigènes des cultures maraîchères du sud-ouest de l'océan Indien » (N°044D10, 15keuros, 2008-2010) dans le cadre de l'appel d'offre du Ministère de l'Outre-Mer (MOM).
- Coordination du projet « Emergence des Géminivirus » (EMERGE, N°PRAO/AIRD/CRVOI/08/03, 200keuros, 2009-2011) dans le cadre de l'appel d'offre du Centre Régional de Veille Sanitaire de l'océan Indien (CRVOI).
- Co-coordonateur du projet « Emergence des Bégomovirus » (EMEB, 50keuros, 2013-2015) dans le cadre de l'appel d'offre PEERS de l'AIRD.

Réseau de recherche et développement :

- Partenaire scientifique du réseau de Programme Régional de Protection des Végétaux (PRPV) de l'océan Indien qui regroupe de nombreuses équipes de recherche des Comores, de Madagascar, de Maurice et des Seychelles.
- Partenaire scientifique du réseau Protection des végétaux et agriculture durable en Afrique Sub-saharienne (ProVeg) qui regroupe de nombreuses équipes de recherche du Burkina Faso, du Bénin, du Cameroun, de Centrafrique, de Côte d'Ivoire et du Gabon.
- Partenaire scientifique du réseau PRASSAC qui regroupe de nombreuses équipes de recherche de Centrafrique, du Cameroun, du Congo, du Gabon et du Tchad.

Organisation de congrès et ateliers scientifiques :

- Co-organisateur d'un atelier international intitulé « Surveillance and Control of cassava diseases in Africa » au Pôle de Protection des Plantes (3P) à St-Pierre (La Réunion, France) du 10 au 13 juin 2014, dans le cadre d'une coordination entre le CRP-RTB-GCP21 (CGIARs), le CIRAD et l'IRD, et grâce au financement de la Fondation Agropolis et du CRP-RTB. Cet atelier a réuni 45 personnes dont des experts de 13 pays africains et des principales institutions, réseaux et fondations internationales impliqués dans la sécurité alimentaire (FAO, BMGF, CIAT, IITA, ASARECA, CORAF/WE CARD, NACRI, NRI, DSMZ, BecA, MARI, AATF-Africa, FOFIFA, INIA, INERA).

4- Activité d'expertise terrain

“ La terre nous en apprend plus sur nous que tous les livres. Parce qu'elle nous résiste. L'homme se découvre quand il se mesure avec l'obstacle.”

Antoine de Saint-Exupéry

1. Lett, J.M., (2006). Formation à la collecte et à la reconnaissance des organismes nuisibles à la demande du Programme Régional de Protection des Végétaux (PRPV). Antananarivo, Antsirabe, Toamasina 11 – 23 novembre 2006. 18p.
2. Lett, J.M., (2007). Expertise virologique sur les cultures légumières à l'île Maurice à la demande du Programme Régional de Protection des Végétaux (PRPV). 19 – 21 Février 2007, 4p.
3. Lett, J.M., (2008). Expertise virologique sur les cultures maraîchères et vivrières à Mayotte. 2 – 10 Juillet 2008.
4. Lett, J.M., (2009). Expertise virologique sur les cultures maraîchères et vivrières dans le sud de Madagascar dans le cadre du projet EmerGe (N°PRAO/AIRD/CRVOI/08/03). 25 mai au 8 juin 2009.
5. Lett, J.M., (2009). Expertise virologique sur les cultures maraîchères et vivrières dans l'archipel des Comores : Grande Comore, Mohéli et Anjouan, dans le cadre du projet EmerGe (N°PRAO/AIRD/CRVOI/08/03). 24 août au 4 septembre 2009.
6. Lett, J.M., (2010). Expertise virologique sur les cultures maraîchères et vivrières dans l'Ouest de Madagascar dans le cadre du projet EmerGe (N°PRAO/AIRD/CRVOI/08/03). 25 avril au 7 mai 2010.
7. Lett, J.M., (2011). Expertise virologique sur les cultures maraîchères et vivrières dans la région du Lac Alaotra de Madagascar dans le cadre du projet EmerGe (N°PRAO/AIRD/CRVOI/08/03). 22 au 27 mai 2011.
8. Lett, J.M., (2011). Expertise virologique sur les cultures maraîchères et vivrières dans le Nord de Madagascar dans le cadre du projet EmerGe (N°PRAO/AIRD/CRVOI/08/03). 26 juin au 11 juillet 2011.



5- Production scientifique

Publications dans des revues à comité de lecture

(Facteur d'impact ISI 2011; Nombre de citations Web of Science 2013)

2000

1. Ioannidou D., **J.-M. Lett**, A. Pinel, K. Assigbetse, C. Brugidou, A. Ghesquière, M. Nicole and D. Fargette (2000). Responses of *Oryza sativa japonica* sub-species to infection with Rice yellow mottle virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57, 177-188. [IF : 1,38 ; NC : 13]

2001

2. **Lett, J.-M.**, M. Granier, M. Grondin, P. Turpin, F. Chiroleu, M. Peterschmitt and B. Reynaud (2001). Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101, 93-109. [IF : 1,54 ; NC : 16]

2002

3. **Lett J.-M.**, M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud and M. Peterschmitt, (2002). Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative PCR. *Phytopathology*, 92, 65-74. [IF : 2,8 ; NC : 16]
4. Delatte H., B. Reynaud, **J.-M. Lett**, M. Peterschmitt, M. Granier, J. Ravololonandrianina and R.W. Goldbach (2002). First molecular identification of a begomovirus in Madagascar. *Plant Disease*, 86, 1404. [IF : 2,5 ; NC : 1]

2003

5. Delatte H., A. Dalmon, D. Rist, I. Soustrade, G. Wuster, **J.-M. Lett**, R. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud (2003). Tomato yellow leaf curl virus can be acquired and transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) from tomato fruits. *Plant Disease*, 87, 1297-1300. [IF : 2,5 ; NC : 5]

2004

6. **Lett J.-M.**, H. Delatte, F. Naze, B. Reynaud, A.L. Abdoul-Karime and M. Peterschmitt, (2004). A New Tomato leaf curl virus from Mayotte. *Plant Disease*, 88, 681. [IF : 2,5 ; NC : 2]

2005

7. Delatte H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, **J.-M. Lett**, R. Goldbach and M. Peterschmitt, (2005). A new silverleaf inducing biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous from the islands of the South West Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research*, 94, 29-35. [IF : 1,88 ; NC : 34]
8. Delatte H., H. Holota, F. Naze, M. Peterschmitt, B. Reynaud and **J.-M. Lett** (2005). The presence of both recombinant and the nonrecombinant strains of Tomato yellow leaf curl virus on tomato in Réunion Island. *Plant Disease*, 54, 262. [IF : 2,13 ; NC : 14]
9. Delatte, H., F. Naze, M. Granier, R. Goldbach, B. Reynaud, M. Peterschmitt, and J.-M. Lett (2005). South West Indian Ocean islands tomato begomovirus populations represent a new major monopartite begomovirus group. *Journal of General Virology*, 86, 1533-1542. [IF : 3,36 ; NC : 38]

2006

10. Delatte, H., F. Naze, J.S. Cottineau, P. Lefeuvre, B. Hostachy, B. Reynaud and **J.-M. Lett** (2006). Occurrence of Tomato chlorosis virus on tomato in Réunion Island. *Plant Pathology*, 55, 289. [IF : 2,13 ; NC : 3]
11. Delatte H., David P., Granier M., **Lett J.-M.**, Goldbach R., Peterschmitt M., Reynaud B (2006). Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetical Research*, 87 (2): 109-124. [IF : 1,71 ; NC : 19]

12. **Lett J.-M.**, H. Delatte, F. Naze, P. Lefeuvre, Y. Mohamed-Ali and B. Reynaud (2006). First report of Tobacco leaf curl Zimbabwe virus affecting tobacco in the Comoros Archipelago. *Plant Pathology*, 55, 567. [IF : 2,13 ; NC : 2]

13. Abu-Ahmad Y., M. Royer, J.H. Daugrois, L. Costet, **J.-M. Lett**, J.I. Victoria, J.C. Girard and P. Rott (2006). Geographical distribution of four Sugarcane yellow leaf virus genotypes. *Plant Disease*, 90, 1156-1160. [IF : 2,5 ; NC : 11]

2007

14. Lefeuvre P., H. Delatte, F. Naze, W. Dogley, B. Reynaud and **Lett J.-M.**, (2007). A new tomato leaf curl virus from the Seychelles Archipelago. *Plant Pathology*, 56, 342. [IF : 2,13 ; NC : 1]

15. Delatte H., H. Holota, B. Reynaud, **Lett J.-M.**, M. Peterschmitt (2007). Evidence for a founder effect after introduction of Tomato yellow leaf curl virus mild in an insular environment. *Journal of Molecular Evolution*, 65, 112-118. [IF : 2,27 ; NC : 7]

16. Lefeuvre P., M. Hoareau, H. Delatte, B. Reynaud and **Lett J.-M.**, (2007). A multiplex PCR method discriminating TYLCV and TYLCV-Mld clades of Tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virological Methods*, 144, 165–168. [IF : 2,01 ; NC : 8]

17. Lefeuvre P., D.P. Martin, M. Hoareau, F. Naze, M. Thierry, H. Delatte, A. Varsani, N. Becker, B. Reynaud and **Lett J.-M.** (2007). Begomovirus “melting pot” in the South West Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology*, 88, 3458-3468. [IF : 3,36 ; NC : 68]

18. Lefeuvre P., **J.-M. Lett**, B. Reynaud and D.P. Martin (2007). Avoidance of protein fold disruption in natural virus recombinants. *PLoS Pathogens*, 3(11): e181. [IF : 9,13 ; NC : 48]

2008

19. Massé D., P. Lefeuvre, H. Delatte, A.L. Abdoul Karime, B. Hostachy, B. Reynaud and **J.-M. Lett** (2008). Tomato chlorosis virus: first report in Mayotte Island. *Plant Disease*, 57, 388. [IF : 2,5 ; NC : 1]

20. Varsani A., D. Shepherd, A. Monjane, B. Owor, J. Erdmann, E. Rybicki, M. Peterschmitt, R. Briddon, P. Markham, S. Oluwafemi, O. Windram, P. Lefeuvre, **J.-M. Lett**, D. P. Martin (2008). Recombination, decreased host specificity and increased mobility may have driven the emergence of *Maize streak virus* as an agricultural pathogen. *Journal of General Virology*, 89, 2063-74. [IF : 3,36 ; NC : 46]

2009

21. **Lett J.-M.**, M. Hoareau, B. Reynaud, A. Saison, B. Hostachy, K. Lobin and S. P. Benimadhu (2009). First report of *Tomato chlorosis virus* (*Crinivirus*) on tomato in Mauritius Island. *Plant Disease*, 93, 111. [IF : 2,5 ; NC : 1]

22. Lefeuvre P., **J.-M. Lett**, A. Varsani and D.P. Martin (2009). Widely conserved recombination amongst single stranded DNA viruses. *Journal of Virology*, 83, 2697-2707. [IF : 5,40 ; NC : 60]

23. Ammar E.D., D. Gargani, **J.-M. Lett**, and M. Peterschmitt (2009). Large accumulations of Maize streak virus in epithelial cells of the filter chamber of the leafhopper vector *Cicadulina mbila*. *Archives of Virology*, 154, 255-262. [IF : 2,11 ; NC : 8]

24. **Lett J.-M.**, Lefeuvre, P., Couston, L., Hoareau, M., Thierry, M., Reynaud, B., Martin, D.P. and A. Varsani (2009). Complete genomic sequences of Tomato yellow leaf curl Mali virus isolates infecting tomato and pepper in the North Province of Cameroon. *Archives of Virology*, 154, 535-540. [IF : 2,11 ; NC : 5]

25. Tiendrébéogoo F., P. Lefeuvre P., M. Hoareau, V.S.E. Traoré, N. Barro, B. Reynaud, A.S. Traoré, G. Konaté, O. Traoré and **J.-M. Lett** (2009). Occurrence of East African cassava mosaic-Uganda (EACMV-UG) in Burkina-Faso. *Plant Pathology*, 58, 783. [IF : 2,13 ; NC : 5]

26. Varsani A., A.L. Monjane, L. Donaldson, S. Oluwafemi, I. Zinga, E.K. Komba, D. Plakoutene, N. Mandakombo, J. Mboukoulida, S. Semballa, R.W. Briddon, P.G. Markham, **J.-M. Lett**, P. Lefeuvre, E.P. Rybicki, D.P. Martin (2009). Comparative analysis of *Panicum streak virus* and *Maize streak virus* diversity, recombination patterns and phylogeography. *Virology Journal*, 6, 194. [IF : 2,34 ; NC : 10]

2010

27. Tiendrébéogoo F., P. Lefeuvre P., M. Hoareau, J. Villemot, G. Konaté, A.S. Traoré, N. Barro, V.S.E. Traoré, B. Reynaud, O. Traoré and **J.-M. Lett** (2010a). Molecular diversity of *Cotton leaf curl Gezira virus* isolates and their satellite associated with okra leaf curl disease in Burkina Faso. *Virology Journal*, 7, 48. [IF : 2,34 ; NC : 6]
28. Tiendrébéogoo F., Traoré V.S., **J.-M. Lett**, N. Barro, G. Konaté, A.S. Traoré, O. Traoré (2010b). Impact of okra leaf curl disease on morphology and yield of okra. *Crop Protection*, 29, 712-716. [IF : 1,40 ; NC : 1]
29. Lefeuvre P., Martin D.P., Harkins G., Lemey P., Gray A.J.A., Meredith S., Lakay F., Monjane A., **Lett J.-M.**, Varsani A. and J. Heydarnejad (2010). The spread of Tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world, *PLoS Pathogens*, 6(10), e1001164. [IF : 9,13 ; NC : 27]

2011

30. Tiendrébéogoo F., Lefeuvre P., Hoareau M., V.S.E. Traoré, N. Barro, F. Péréfarres, B. Reynaud, A.S. Traoré, G. Konaté, **J.-M. Lett** and O. Traoré (2011). Molecular and biological characterization of Pepper yellow vein Mali virus (PepYVMV) isolates associated to pepper yellow vein disease in Burkina Faso. *Archives of Virology*, 156, 483-487. [IF : 2,11 ; NC : 2]
31. Thierry M., N. Becker, A. Hajri, B. Reynaud, **J.-M. Lett** and H. Delatte (2011). Diversity of secondary symbionts and genetic structure among *Bemisia tabaci* populations in Reunion Island. *Molecular Ecology*, 20, 2172–2187. [IF : 5,52 ; NC : 7]
32. Lefeuvre P., G. W. Harkins, **J.-M. Lett**, R. Briddon, A. R. Leitch, M. W. Chase, Moury B. and D.P. Martin (2011). The time-scale of begomovirus evolution: evidence from integrated sequences in *Nicotiana* genome. *PLoS ONE*, 6(5), e19193. [IF : 4,09 ; NC : 6]
33. Péréfarres F., Hoareau M., Chiroleu F., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2011). A novel synthetic quantification standard including virus and internal report target: application to the detection and quantification of emerging begomoviruses on tomato. *Virology Journal*, 8, 389. [IF : 2,34 ; NC : 1]
34. Martin D.P., P. Lefeuvre, M. Hoareau, J.Y. Semegnia, B. Dijoux, C. Vincent, B. Reynaud, A. Varsani, and **J.-M. Lett** (2011). Complex recombination patterns arising during geminivirus coinfections both preserve and demarcate biologically important intra-genome interaction networks. *PLoS Pathogens*, 7(9): e1002203. [IF : 9,13 ; NC : 7]
35. Monjane A., G. W. Harkins, Martin D.P., P. Lemey, P. Lefeuvre, D. Shepherd, S. Oluwafemi, M. Simuyandi, I. Zinga, E. Komba, D. Lakoutene, N. Mandakombo, J. Mboukoulida, S. Semballa, A. Tagne, F. Tiendrébéogoo, J. Erdmann, T. van Antwerpen, B. Owor, B. Flett, M. Ramusi, O. Windram, R. Syed; **J.-M. Lett**, R. Briddon; P. Markham; E. Rybicki, A. Varsani (2011). Reconstructing the history of Maize streak virus strain-A dispersal to reveal diversification hotspots and its origin in southern Africa. *Journal of Virology*, 85, 9623-9636. [IF : 5,40 ; NC : 7]
36. **Lett J.-M.**, F. Péréfarres, M. Hoareau, A. De Bruyn, P. Lefeuvre, M. Dottin, P. Prior and E. Wicker, P. Umaharan (2011). Tomatoes showing yellow leaf curl symptoms in Grenada Island exhibit an infection with Tomato yellow leaf curl virus either alone or in combination with Potato yellow mosaic virus. *New Disease Reports*, 24, 19. [IF : NA ; NC : NA]

2012

37. Thierry M., Lefeuvre H., Hoareau M., Péréfarres F., Delatte H., Reynaud, B., Martin D.P. and **J.-M. Lett** (2012). Differential disease phenotype of a complex of begomoviruses associated with tobacco leaf curl disease in Comoros. *Archives of Virology*, 157:545–550. [IF : 2,11 ; NC : 1]

38. Péréfarres F., De Bruyn A., Lefeuvre P., Hoareau M., Varsani A. and **J.-M. Lett** (2012). Occurrence of TYLCV-IL in New-Caledonia and Loyalty Islands. *New Disease Reports*, 25:6. [IF : NA ; NC : NA]
39. Tiendrébéogo F., Lefeuvre P., Hoareau M., Harimalala M., Villemot J., Traoré V., Konaté G., Traoré A., Barro N., Reynaud B., Traoré O. & **J.-M. Lett** (2012). Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Virology Journal*, 9:67. [IF : 2,34 ; NC : 4]
40. Pande D., Kraberger S., Lefeuvre P., **Lett J.-M.**, Shepherd D., Varsani A. and D. Martin (2012). A novel maize infecting mastrevirus from La Réunion Island. *Archives of Virology*, 157:1617–1621. [IF : 2,11 ; NC : 1]
41. Harimalala M., Lefeuvre P., De Bruyn A., Tiendrébéogo F., Hoareau M., Villemot J., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. and **J.-M. Lett** (2012). A novel cassava-infecting begomovirus from Madagascar: Cassava mosaic Madagascar virus. *Archives of Virology*, 157:2027–2030. [IF : 2,11 ; NC : 3]
42. Zinga I., Harimalala M., De Bruyn A., Hoareau M., Mandakombo N., Reynaud B. and Lefeuvre P., **J.-M. Lett** (2012). East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) and African cassava mosaic virus (ACMV) reported for the first time in Central African Republic and Chad. *New Disease Reports*, 26, 17. [IF : NA ; NC : NA]
43. Monjane A., Pande D., Lakay F., Shepherd D., Lefeuvre P., **Lett J.-M.**, Varsani A., Rybicki E., Martin D.P. (2012). Adaptive evolution by recombination is not associated with increased substitution rates in Maize streak virus. *BMC Evolutionary Biology*, 12:252. [IF : 3,52 ; NC : 1]
44. De Bruyn A., Villemot J., Lefeuvre P., Villar E., Hoareau M., Harimalala M., Abdoul-Karime A., Abdou-Chakour C., Reynaud B., Harkins G.W., Varsani A., Martin D.P. and **J.-M. Lett** (2012). East African cassava mosaic-like viruses from Africa to Indian Ocean Islands: molecular diversity, evolutionary history and geographical dissemination of a bipartite begomovirus. *BMC Evolutionary Biology*, 12:228. . [IF : 3,52 ; NC : 1]
45. Péréfarres F., Thierry M., Lefeuvre P., Becker N., Reynaud B., Delatte H. and **J.-M. Lett** (2012). Biological invasions of phyto-viruses transmitted by arthropod vectors: the case study of TYLCV and *Bemisia tabaci* in Reunion Island. *Viruses*, 4, 3665-3688. [IF : NA ; NC : 0]

2013

46. Zinga I., Chiroleu F., Legg J., Lefeuvre P., Kosh Komba E., Semballa S., Yandia S.P., Mandakombo N., Reynaud B. and **J.-M. Lett** (2013). Epidemiological assessment of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of viral mixed infection and poor health of plant cuttings. *Crop Protection*, 44, 6-12. [IF : 1,40 ; NC : 0]
47. Harimalala M., De Bruyn A., Hoareau M., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B., Lefeuvre P., and **J.-M. Lett** (2013). Molecular characterization of a new alphasatellite associated with a cassava mosaic geminivirus in Madagascar. *Archives of Virology*, 157, 2027-2030. [IF : 2,11 ; NC : 0]

2014

48. Muhire B., Golden M., Murrell B., Lefeuvre P., **Lett J.-M.**, Gray A., Poon A., Ngandu N., Semegni Y., Tanov E., Monjane A., Harkins G., Varsani A., Shepherd D., Martin D.P. (2014). Evidence of Pervasive Biologically Functional Secondary Structures within the Genomes of Eukaryotic ssDNA Viruses. *Journal of Virology*, 88, 1972-1989. [IF : 5,40]
49. Péréfarres F., Thébaud G., Lefeuvre P., Chiroleu F., Rimbaud L., Hoareau M., Reynaud B. and **J.-M. Lett** (2014). Frequency-dependent assistance as a way out of competitive exclusion between two strains of an emerging virus. *Proceedings of the Royal Society B*, 281, 20133374. [IF : 5,60]

50. Harimalala M., Chiroleu F., Giraud-Carrier C., Hoareau M., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. Lefeuvre P., and **J.-M. Lett**. Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plant Pathology*, accepted. [IF : 2,13]

Tableau de synthèse des publications

	Nombre	Facteur d'impact ISI JCR 2012
<i>PLoS Pathogens</i>	3	8,14
<i>Molecular Ecology</i>	1	6,28
<i>Proceedings of the Royal Society B</i>	1	5,68
<i>Journal of Virology</i>	3	5,08
<i>PLoS ONE</i>	1	3,73
<i>BMC Evolutionary Biology</i>	2	3,29
<i>Journal of General Virology</i>	3	3,13
<i>Phytopathology</i>	1	2,97
<i>Plant Pathology</i>	5	2,73
<i>Viruses</i>	1	2,51
<i>Plant Disease</i>	7	2,45
<i>Journal of Molecular Evolution</i>	1	2,15
<i>Virology Journal</i>	4	2,09
<i>Archives of Virology</i>	7	2,03
<i>Genetical Research</i>	1	2,00
<i>Bulletin of Entomological Research</i>	1	1,99
<i>Journal of Virological Methods</i>	1	1,90
<i>Entomologia Experimentalis et Applicata</i>	1	1,67
<i>Physiological and Molecular Plant Pathology</i>	1	1,51
<i>Crop Protection</i>	2	1,30
<i>New Disease Reports</i>	3	NA
Total	50	

Publications soumises ou en préparation

1. **Lett J.-M.**, Delatte H., Robène I., Brugidou C., Duval M.F., Roux-Cuvelier M., Poussier S., Brouchoud H., Jouen E., Verdier V., Reynaud B., Fauquet C. (2014). A French team joins the fight on cassava diseases in Africa. *Food Security*, submitted.
2. Becker N., Rimbaud L., Chiroleu F., Reynaud B., Thébaud G. and **J.-M. Lett**. Rapid accumulation and strong preservation the keys of the preservation of TYLCV in its insect vector *Bemisia tabaci*.
3. De Bruyn A., Harimalala M., Hoareau M., P. Ranomenjanahary S., Reynaud B., Harkins G.W., Varsani A., Martin D.P., **J.-M. Lett** and P. Lefeuvre. Divergent evolutionary histories of cassava mosaic begomoviruses in Madagascar.

Publications dans des revues sans comité de lecture

1. **Lett, J.-M.**, & P., Schmitt, (1992). BSA: a new cryoprotectant for suspension cells of bramble (*Rubus fruticosus*). *C.R. Académie des Sciences de Paris*, t.315, Série III, 453-458.

2. **Lett, J.-M.**, B., Reynaud, & M., Peterschmitt, (2000). Les mécanismes de la transmission circulante des virus de végétaux par insectes piqueurs-suceurs. *Virologie*, 5, 169-181.
3. Reynaud, B., G., Wuster, H., Delatte, I., Soustrade, **J.-M.**, **Lett**, O., Gambin, & M., Peterschmitt, (2003). Les maladies à bégomovirus chez la tomate dans les départements français d'Outre-Mer. II – Le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) à la Réunion. *Phytoma*, 562, 13-17.
4. Rimbaud, L., Cottineau, J.-S., Avril, J.-P., Sorres, V., Festin, C., Minatchy, J., Suzanne, W., Leroux, K., Tilma, P., Maillary, L., Dupuis, S., Hostachy, B. & **J.-M. Lett** (2012). La tomate face au TYLCV à la Réunion. *Phytoma*, 650, 48-52.

Chapitres d'ouvrages

1. Delatte, H., **Lett J.-M.**, Lefeuvre, P., Reynaud, B., and P., Peterschmitt (2007). An insular environment before and after TYLCV introduction. Editor Henryk Czosnek in *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease*. Springer, pp. 13-23.
2. Etienne Herrbach, Nicolas Sauvion, Elisabeth Boudon-Padieu, **Jean-Michel Lett**, Bernard Reynaud et René Sforza (2013). Une relation trophique originale : La vection entomophile d'agents pathogènes. Editeurs Denis Thiery, Paul-André Calatayud, Nicolas Sauvion, Frédéric Marion-Poll dans *Des Insectes et des Plantes*, Edition IRD-Quae, Partie 6, Chapitre 31, pp 1-24.
3. Anders Kvarnheden, **Jean-Michel Lett**, Michel Peterschmitt (2013). Mastreviruses transmission. Editor Judith Brown in *Vector-Mediated Transmission of Plant Pathogens*, APS, in press .

Communications orales dans des conférences

1. Reynaud, B., **J.-M.**, **Lett**, M., Granier, F., Molinaro, Y., Mara, M., Grondin, D., Lan Sun Luk, and M., Peterschmitt, (1997). Electrical penetration graph from *Cicadulina mbila* on a susceptible maize hybrid and the fine structure of its stylets pathways. *9th International Auchenorrhyncha Congress*, February 17-21, Sydney, Australia.
2. Reynaud, B., **J.-M.**, **Lett**, M., Granier, F., Molinaro, F., Grauer, M., Grondin, P., Lefrere, J., Pomes, and M., Peterschmitt, (1997). Electrical penetration graph from *Cicadulina mbila* and its application in plant breeding to screen a potential resistance of maize to MSV transmission. *Maize Streak Disease Symposium*, September 8-11, Nelspruit, South Africa.
3. **Lett, J.-M.**, M., Granier, M., Grondin, S., Blanc, M., Peterschmitt, et B., Reynaud, (1998). Analyse cellulaire des mécanismes d'acquisition du maize streak virus (MSV) par *Cicadulina mbila*. *Rencontres du groupe Vection à l'INRA de Colmar du 25-26 mars 1998*.
4. **Lett, J.-M.**, (1999). Caractérisation du comportement alimentaire de *Cicadulina mbila* (Naude, 1924) sur maïs par électropénétrographie, corrélée à la localisation cellulaire des stylets. *Travaux Dirigées*, Centre National d'Etudes Agronomiques des Régions Chaudes, 26 Janvier, CNEARC, Montpellier.
5. **Lett, J.-M.**, (1999). Les virus à Transmission Circulante. *Rencontres du Groupe des Phytovirologues d'Agropolis*, 25 Mars, CIRAD, Montpellier.
6. **Lett, J.-M.**, M. Granier, M. Grondin, I. Hippolyte, B. Reynaud et M. Peterschmitt, (2000). Traquer le MSV dans les entrailles de cicadelles à l'aide de la technique PCR. *Rencontres du groupe Vection*, 18-19 Avril, INRA de Rennes.

7. **Lett, J.-M.**, M. Granier, M. Grondin, P. Turpin, F. Chiroleu, M. Peterschmitt et B. Reynaud, (2001). La transmission du *Maize streak virus* (Geminiviridae) par *Cicadulina mbila* Naudé (Homoptera, Cicadellidae) sur maïs : I. Dynamique du virus dans le vecteur. *8èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 11-15 Mars, Aussois.
8. **Lett, J.-M.**, M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud et M. Peterschmitt, (2001). La transmission du *Maize streak virus* (Geminiviridae) par *Cicadulina mbila* Naudé (Homoptera, Cicadellidae) sur maïs : II. Comportement alimentaire de la cicadelle. *8èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 11-15 Mars, Aussois.
9. **Lett, J.-M.**, M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud and M. Peterschmitt, (2001). Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative PCR. *3rd International Geminivirus Symposium*, 24-28 July, Norwich, UK.
10. Delatte, H., F. Naze, M. Granier, B. Reynaud, M. Peterschmitt and **J.-M. Lett**, (2004). Tomato-infecting begomoviruses in the South Western islands of the Indian Ocean. *4th International Geminivirus Symposium*, 15-20 February, Cape Town, South Africa.
11. Delatte, H., D. Martin, F. Naze, M. Granier, B. Reynaud, M. Peterschmitt et **J.-M. Lett**, (2005). Caractérisation moléculaire de deux nouvelles espèces de bégomovirus monopartite de la tomate dans îles du sud-ouest de l'océan Indien. *10èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 6-10 Mars, Aussois.
12. **Lett J.-M.**, L. Couston, L. Nucci, F. Naze, M. Grondin, M. Peterschmitt et B. Reynaud (2005). Mode de transmission du TYLCV-Mld[RE] par le biotype B de *Bemisia tabaci*: accumulation, persistance et test de la transmission transovarienne. *10èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 6-10 Mars, Aussois.
13. Villar E., P. Lefeuvre, H. Delatte, D. Martin, B. Reynaud et **J.-M. Lett**, (2007). Diversité génétique des bégomovirus responsables de la mosaïque du manioc dans les archipels des Comores et des Seychelles : évidence d'une nouvelle espèce, fruit d'une recombinaison interspécifique ancestrale. *10èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 28 janvier au 1^{er} février, Aussois.
14. Lefeuvre P., F. Naze, H. Delatte, D. Martin, B. Reynaud et **J.-M. Lett**, (2007). Les bégomovirus des cultures maraîchères du Sud Ouest de l'Océan Indien : un « melting pot » viral. *10èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 28 janvier au 1^{er} février, Aussois.
15. Varsani A., A. Mojane, O. Windram, D. Shepherd, B. Owor, P. Lefeuvre, **J.-M. Lett** and D.P. Martin (2007). Diversity of MSV in African grasses. *5th International Geminivirus Symposium*, 20-26 May, Ouro Preto, Brazil.
16. **Lett J.-M.**, N. Becker, F. Chiroleu, M. Peterschmitt et B. Reynaud (2008). La dynamique du TYLCV à travers son insecte vecteur *Bemisia tabaci* : étude de l'accumulation, de la persistance et de la transmission transovarienne. *Atelier Biologie des Interactions Vecteur - Agent pathogène*, 6-7 novembre, Cirad, Montpellier.
17. Ammar E.D., D. Gargani, **J.-M. Lett**, B. Reynaud and M. Peterschmitt (2008). La transmission persistante du Maize streak virus par *Cicadulina mbila*, une adaptation extraordinaire d'un virus à son vecteur. *Atelier Biologie des Interactions Vecteur - Agent pathogène*, 6-7 novembre, Cirad, Montpellier.

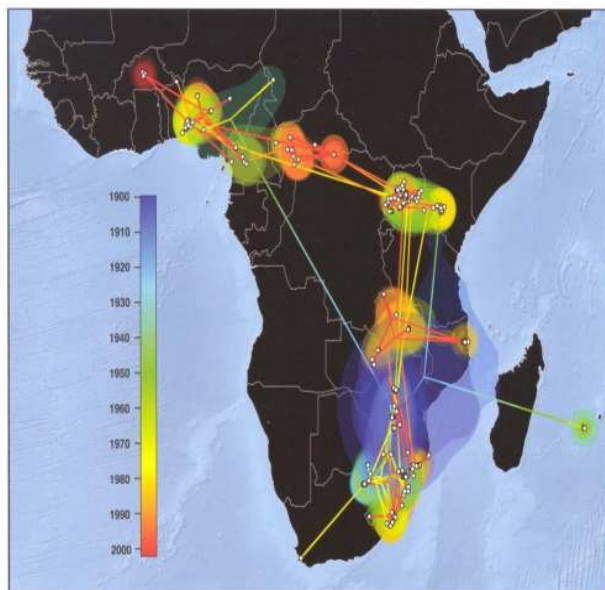
18. Becker N., **J.-M. Lett**, P. Lefeuvre et B. Reynaud (2008). Réplication du TYLCV dans le modèle Bemisia tabaci – tomate : quantification spécifique du brin complémentaire. *Atelier Biologie des Interactions Vecteur - Agent pathogène*, 6-7 novembre, Cirad, Montpellier.
19. Lefeuvre P., D. Martin, M. Hoareau, B. Reynaud, A. Varsani et **J.-M. Lett** (2010). Exploration de l'espace séquentiel par recombinaison interspécifique : un mariage heureux entre un virus invasif et un virus indigène ! *Atelier Diversité et Evolution*, 2-3 décembre, Cirad, Montpellier.
20. Péréfarres F, Lefeuvre P., Hoareau M., Thierry M., Becker N., Delatte H., Reynaud B., Dintinger J., and **J.-M. Lett** (2011). Rapid displacement as a result of interaction between strains of TYLCV in Reunion Island. *11èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 16-20 janvier, Aussois, France.
21. Tiendrébéogo F., P. Lefeuvre, M. Hoareau, J. Villemot, G. Konaté, A. S. Traoré, N. Barro, V. Traoré, B. Reynaud, O. Traoré, **J.-M. Lett** (2011). La maladie de l'enroulement foliaire du gombo au Burkina Faso : Impact sur le rendement et diversité moléculaire des begomovirus et ADNs satellites associés. *11èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 16-20 janvier, Aussois, France.
22. Lefeuvre P., D. P. Martin, G. Harkins, P. Lemey, A. J. A. Gray, S. Meredith, F. Lakay, A. Monjane, **J.-M. Lett**, A. Varsani and J. Heydarnejad (2011). The spread of Tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world. *11èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 16-20 janvier, Aussois, France.
23. Lefeuvre P., D. P. Martin, **J.-M. Lett**, (2011). Dissemination, molecular diversity and evolution through recombination of emergent begomoviruses. *RUN EMERGE scientific meeting, University of La Reunion*, 24-25 novembre, Saint-Denis, La Réunion, France.
24. Péréfarres F., Lefeuvre P., Hoareau M., Thierry M., Magali D.H., Reynaud B., Dintinger J., and **J.-M. Lett** (2011). Rapid displacement as a result of interaction between strains of TYLCV in Reunion Island. Third International Symposium on tomato diseases, July 25-30, Ischia, Italy.
25. Harimalala M., De Bruyn A., Lefeuvre P., Villemot J., Hoareau M., Andrianjaka A., Ranomenjanahary S., Reynaud B. and **J.-M. Lett** (2012). Genetic diversity and phylogeography of cassava mosaic geminiviruses in Madagascar. *Second Scientific Conference of the Global Cassava Partnership for the 21st Century* (GCP21-II) June 18-22, Kampala, Uganda.
26. Tiendrébéogo F., Lefeuvre P., Hoareau M., Harimalala M., De Bruyn A., Villemot J., Traoré V.S.E., Konaté G., Traoré A.S., Barro N., Reynaud B., Traoré O. and **J.-M. Lett** (2012). Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Second Scientific Conference of the Global Cassava Partnership for the 21st Century* (GCP21-II) June 18-22, Kampala, Uganda.
27. De Bruyn A., Villemot J., Lefeuvre P., Villar E., Hoareau M., Harimalala M., Abdoul-Karime A., Abdou-Chakour C., Reynaud B., Harkins G.W., Varsani A., Martin D.P. and **J.-M. Lett** (2013). East African cassava mosaic-like viruses from Africa to Indian Ocean Islands: molecular diversity, evolutionary history and geographical dissemination of a bipartite begomovirus. *12èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 13-17 janvier, Aussois, France..
28. Péréfarres F., Thébaud G., Lefeuvre P., Chiroleu F., Rimbaud L., Hoareau, M., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2013). Long-term viral competition monitoring: a case of epidemiological rescue. *12èmes Rencontres de Virologie Végétale*, 13-17 janvier, Aussois, France.

29. Thébaud G., Péréfarres F., Lefeuvre P., Chiroleu F., Rimbaud L., Hoareau, M., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2013). Coexistence of two viral strains in epidemics through assistance in-coinfected hosts. *Workshop in Virus Evolution*, March 7-9, State College, Pennsylvania, USA.
30. De Bruyn A., Villemot J., Lefeuvre P., Villar E., Hoareau M., Harimalala M., Abdoul-Karime A., Abdou-Chakour C., Reynaud B., Harkins G.W., Varsani A., Martin D.P. and **J.-M. Lett** (2013). East African cassava mosaic-like viruses from Africa to Indian Ocean Islands: molecular diversity, evolutionary history and geographical dissemination of a bipartite begomovirus. *7th International Geminivirus Symposium*, November 3-9, Hangzhou, China.
31. **Lett J.-M.**, Péréfarres F., Lefeuvre P., Chiroleu F., Rimbaud L., Hoareau, M., Reynaud, B. and G. Thébaud (2013). Long-term viral competition monitoring: a case of epidemiological rescue. *7th International Geminivirus Symposium*, November 3-9, Hangzhou, China.

Chapitre 2

Document de synthèse

Diversité, Evolution et Emergence des phytovirus à transmission vectorielle : La chronique des géminivirus



1. Introduction

“Les maladies infectieuses ne disparaîtront jamais. Il en naîtra toujours de nouvelles; il en disparaîtra lentement quelques-unes; celles qui subsisteront ne se montreront plus sous la forme que nous connaissons aujourd’hui”

Charles Nicolle – *Destin des maladies infectieuses*, 1933

Lauréat du Prix Nobel de Médecine

Durant des millions d’années, les virus ont co-évolué avec leurs hôtes sauvages (Cooper and Jones, 2006). Ce processus évolutif progressif a permis aux virus de s’adapter de façon très fine aux évolutions de leurs hôtes, en intégrant les aspects les plus complexes de leur biologie. La domestication des plantes a profondément perturbée cette coévolution, en modifiant les relations entre les plantes cultivées, les virus et leurs vecteurs, qui ont dû s’adapter aux nouvelles conditions et aux changements des pratiques culturales de plus en plus sophistiquées (Jones, 2009). Ces perturbations de l’équilibre des pathosystèmes ont été exacerbées par le déplacement des plantes cultivées de leurs centres de domestication vers des régions lointaines ou d’autres continents. Ces invasions biologiques ont favorisé de nouvelles rencontres entre les plantes cultivées et les virus. Associés aux pratiques agricoles modernes, tels que les monocultures, ils ont favorisé l’émergence d’épidémies fréquentes et dommageables, généralement considérées comme rares dans les communautés végétales indigènes.

Les virus sont responsables de presque la moitié des maladies émergentes décrites sur les plantes ces dernières années (Anderson *et al.*, 2004). Les phytovirus émergents sont définis comme ceux qui sont récemment apparus (espèce ou souche inconnue, changement de plante hôte) ou ceux dont les populations ont récemment augmenté en pathogénicité (virulence accrue et/ou contournement d’une résistance), en prévalence (proportions nouvelles) et/ou en répartition géographique (invasions biologiques) (Holmes and Rambaut, 2004 ; Jones, 2009). L’émergence virale est généralement associée à des **facteurs écologiques et moléculaires aboutissant à de nouvelles interactions virus - vecteur - plante - environnement** (Figure 1 ; Fargette *et al.*, 2006). En effet, les principaux facteurs associés aux émergences virales chez les plantes sont les **invasions biologiques** avec les introductions d’agents pathogènes dans des nouveaux environnements (71% des cas), **les changements des populations d’insectes vecteurs** (16%), **la recombinaison** (5%), le climat (5%) et enfin les pratiques culturales (3%) (Anderson *et al.*, 2004). Ces facteurs sont notamment le résultat de la mondialisation des échanges commerciaux, des contacts croissants entre les écosystèmes cultivées et naturels et enfin des changements climatiques globaux modifiant profondément les niches écologiques.

Les moyens de lutte utilisés actuellement contre les maladies virales transmises par vecteur, sont de deux types : la lutte contre le vecteur, qui rompt le cycle de la maladie, et la résistance au

pathogène. Ces moyens sont généralement onéreux, et certains, comme les traitements insecticides, sont connus pour provoquer des dommages importants à l'environnement. La sélection classique de variétés résistantes est souvent efficace et semble être la méthode de choix, si les sources de résistance au virus et/ou à l'insecte sont disponibles. Des résistances dérivées du pathogène sont également développées grâce à la technologie de la transgénèse. Une voie innovante de contrôle des maladies virales encore peu explorée serait de **'brouiller' l'interaction entre le virus et le vecteur**, en évitant ainsi que l'insecte potentiellement vecteur ne devienne apte à transmettre le virus. L'avènement d'une telle stratégie de lutte est cependant tributaire des connaissances encore limitées sur les **interactions cellulaires et moléculaires entre le virus et le vecteur et entre le vecteur et la plante**.

Pour anticiper les épisodes d'émergence, il est indispensable de **comprendre les processus évolutifs** associés à l'adaptation des virus à de nouveaux hôtes (saut d'espèce) et/ou à la propagation de nouveaux variants viraux plus virulents. Pour accéder à ces connaissances, il est nécessaire de décrire la variabilité naturelle et potentielle des espèces virales, et de déterminer leur pouvoir pathogène (capacité de multiplication, efficacité de transmission, agressivité et incidence), et d'étudier les associations complexes et les phénomènes de synergie. Il est également important de **caractériser les facteurs épidémiologiques** impliqués dans leur dispersion spatio-temporelle. L'ensemble de ces données permettront de mieux comprendre les relations existantes entre les virus et leurs environnements, d'identifier les facteurs biotiques et/ou abiotiques favorables/défavorables à la dissémination des variants viraux émergents, et de comprendre l'importance de la mutation et de la recombinaison dans leur processus évolutif.

Présentation du projet de recherche

Mon projet de recherche a porté sur **les facteurs écologiques et moléculaires impliqués dans l'émergence des maladies à gémiovirus transmis par insecte vecteur** (Figure 1). Les gémiovirus sont responsables de nombreuses maladies émergentes sur les cultures maraîchères, vivrières et économique, et particulièrement dommageables dans les régions tropicales où les populations dépendent étroitement de la production agricole pour leur alimentation et leurs revenus. Ma première activité de recherche a consisté à étudier (Chapitre 1), les étapes majeures de la **transmission de ces virus** par insecte vecteur, dont l'accessibilité du virus au moment de l'alimentation du vecteur, la capacité d'inoculation du virus dans une nouvelle plante et la persistance du virus dans le vecteur suite à une alimentation infectieuse. Deuxièmement, mon projet s'est intéressé à identifier les principaux **facteurs écologiques** impliqués dans leur émergence (Chapitre 2), dont notamment les invasions biologiques avec le changement des populations de vecteurs, la dissémination virale et l'introduction de plante hôte sensible aux gémiovirus dans de nouveaux écosystèmes. Troisièmement, mon étude a porté sur les principaux **facteurs moléculaires** impliqués dans l'émergence (Chapitre 3), dont la diversité et l'évolution virale, les associations complexes et les phénomènes de synergie inter-espèces et inter-souches.

Quels sont les facteurs écologiques et moléculaires impliqués dans l'émergence des maladies virales à transmission vectorielle ?

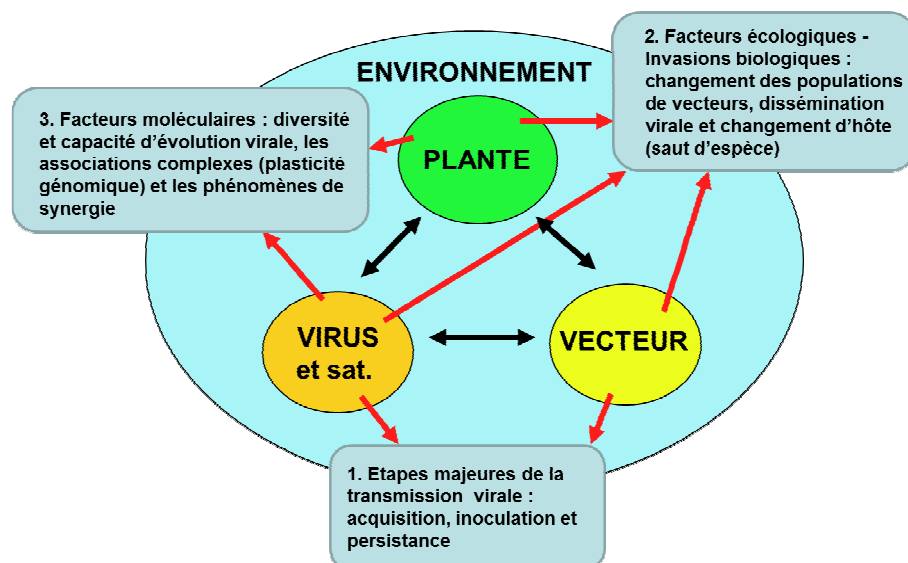


Figure 1. Diagramme des principaux facteurs écologiques et moléculaires impliqués dans l'émergence des maladies virales à transmission vectorielle.

Résumé des principaux faits marquants

Les **capacités d'acquisition et d'inoculation** du virus ont été étudiées premièrement dans le cas de la transmission circulante du *Maize streak virus* (MSV, *Mastrevirus*) par *Cicadulina Mbila* (Hemiptera : Cicadellidae) et du *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV, *Begomovirus*) transmis par *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae). En utilisant un système d'électrophysiologie combinée à la microscopie électronique à transmission nous avons identifié les phases du cycle alimentaire les plus favorables à l'acquisition du MSV sur une plante infectée avec l'ingestion active de fluide cellulaires non phloémiens et l'inoculation du virus dans une plante saine lors de l'étape de salivation dans le phloème (Lett *et al.*, 2001). Nous nous sommes également intéressé à **élucider l'énigme de la persistance et de la réplication** du MSV et du TYLCV au sein de leur vecteur respectifs, en étudiant (1) l'acquisition et la persistance virale, (2) la colonisation des différents compartiments de l'insecte impliqués dans la transmission circulante et (3) les cinétiques des charges virales et les flux entre les compartiments de l'insecte en utilisant différentes approches basées sur la PCR en temps réel et la microscopie (Lett *et al.*, 2002). Nos travaux ont permis d'identifier (1) l'existence d'une barrière intestinale spécifique, (2) la capacité d'emmagasiner des quantités très importantes d'ADN viral, et (3) la décroissance de la charge virale en période de jeûne viral indépendamment de l'espèce ou de la souche virale et de la durée d'alimentation infectieuse. Par ailleurs, l'ensemble de nos observations concernant (1) la diminution de la charge virale du TYLCV (forme virale ou répliquative) dans les aleurodes après une période d'alimentation infectieuse et (2) l'absence de transmission transovarienne du TYLCV à la descendance, soutiennent l'hypothèse d'une transmission du TYLCV selon le mode circulant non multipliant (Becker *et al.*, in prep.).

Deuxièmement, mon projet de recherche s'est intéressé à identifier les **principaux facteurs écologiques** impliqués dans leur émergence, dont notamment les **invasions biologiques** avec le **changement des populations de vecteurs** (Delatte *et al.*, 2005a, 2006 ; Thierry *et al.*, 2011), la **dissémination virale** (Delatte *et al.*, 2003, 2005b ; Lett *et al.*, 2011 ; Péréfarres *et al.*, 2012) et l'**introduction de plante hôte sensible** aux géminivirus dans de nouveaux écosystèmes (Delatte *et al.*, 2005c ; Pande *et al.*, 2012). L'introduction successive de deux souches exotiques de TYLCV et d'une espèce invasive et polyphage de *B. tabaci* à la Réunion, nous a offert l'opportunité d'étudier l'évolution moléculaire et les dynamiques épidémiologiques de ces complexes viraux et vecteurs dans un écosystème tropical et insulaire (Delatte *et al.*, 2007 ; Thierry *et al.*, 2011 ; Péréfarres *et al.*, 2014). Nos données épidémiologiques et expérimentales ont permis la construction d'un modèle qui prédit la coexistence des deux souches sur le long terme grâce à la facilitation unilatérale entre les deux agents pathogènes et le maintien dans l'environnement de la souche la moins compétitive. La mise en place d'une veille sanitaire dans les îles du SOOI et en Afrique sur les cultures maraîchères et vivrières a permis (1) de caractériser une extraordinaire diversité de bégomovirus impliquée dans de nombreuses maladies (Delatte *et al.*, 2002, 2005c, 2006 ; Lefeuvre *et al.*, 2007a ; Lett *et al.*, 2004, 2006, 2009 ; Massé *et al.* 2008 ; Tiendrébéogo *et al.*, 2009) (2) d'étudier leurs relations phylogénétiques (Delatte *et al.*, 2005c ; Tiendrébéogo *et al.*, 2010a, 2010c ; Lefeuvre *et al.*, 2007c) et (3) d'analyser l'importance de la recombinaison dans leur évolution (Harimalala *et al.*, 2012 ; Lefeuvre *et al.*, 2007c, Tiendrébéogo *et al.*, 2012 ; Varsani *et al.*, 2008, 2009). L'analyse de la diversité des CMGs à l'échelle régionale des archipels des Comores et des Seychelles (De Bruyn *et al.*, 2012), du MSV à l'échelle du continent africain (Monjane *et al.*, 2011) et du TYLCV à l'échelle mondiale (Lefeuvre *et al.*, 2010) a permis de reconstruire les histoires évolutives à l'origine de la diversité actuelle de ces virus et de leurs souches émergentes, d'identifier leurs principales routes de dissémination et les hot spots géographiques de diversification de ces virus.

Enfin, notre étude a porté sur les principaux **facteurs moléculaires** (recombinaison et pseudo-recombinaison) impliqués dans la diversité et la capacité d'évolution des géminivirus et leur plasticité génomique notamment en créant des associations complexes avec des ADNs satellites (Harimalala *et al.*, 2013 ; Tiendrébéogo *et al.*, 2010a). L'analyse de la diversité génétique des bégomovirus des îles SOOI et d'Afrique a révélé l'existence (1) d'un grand nombre d'évènements de **recombinaison interspécifique** qui semble avoir forgé la diversité génétique des populations virales et (2) de **hot et cold spots de recombinaison** qui suggèrent que les évènements de recombinaison ne sont pas distribués aléatoirement le long des génomes (Delatte *et al.*, 2005c ; Lefeuvre *et al.*, 2007c). D'autre part, l'utilisation d'une technique combinatoire basée sur la prédiction des perturbations tridimensionnelles des protéines à la suite d'évènement de recombinaison, a permis de démontrer que les évènements de recombinaison observés sont moins perturbants que ceux simulés (Lefeuvre *et al.*, 2007d). Par conséquent, la sélection purificatrice, qui semble agir sur les recombinants naturels qui ne présentent pas des structures protéiques appropriées, représente un déterminant majeur du profil de recombinants naturels chez les bégomovirus. Enfin, l'élargissement de cette analyse à l'ensemble des virus à ADN circulaire simple brin, présentant pourtant des gammes d'hôtes très variées (animaux, végétaux et bactéries), a permis de confirmer l'importance de la recombinaison et de la sélection purificatrice sur le

façonnage des profils de recombinaison et le maintien des réseaux d'interaction au sein du génome (Lefeuvre *et al.*, 2009). L'étude expérimentale de la capacité d'évolution et d'adaptation des populations virales, issues de la rencontre entre un virus exotique, invasif et émergent et d'un virus indigène de la région SOOI a permis de démontrer que la recombinaison offre l'opportunité à ces virus d'accéder un très large espace de diversité, et de générer des variants potentiellement plus adaptés (Martin *et al.*, 2011).

L'ensemble de nos investigations suggère que les principaux facteurs associés à l'émergence de ces maladies à gémivirus en Afrique et dans les îles SOOI sont les **invasions biologiques** avec les introductions (1) d'agents pathogènes dans de nouveaux environnements, (2) de plantes exotiques sensibles aux gémivirus (saut d'espèce), (3) de populations d'insectes vecteurs avec une gamme de plante hôte plus large capable d'extraire de nouvelles espèces virales de leur niche originelle (écosystèmes naturels), (4) l'apparition de nouvelles espèces virales, et (5) la recombinaison et les associations complexes de plusieurs espèces virales et d'ADN satellites.

2. Le modèle des géminivirus

Généralités et classification des géminivirus

Les géminivirus sont des virus à ADN circulaire simple brin encapsidé dans une particule icosaédrique associée en doublets, de 18-20 nm de diamètre et d'environ 30 nm de longueur (Pour revue Jeske, 2009). Sur la base de leur organisation génomique, de leur gamme de plantes hôtes et d'insectes vecteurs, la famille des géminivirus est divisée en sept genres (Brown *et al.*, 2012 ; Varsani *et al.*, 2014). En plus des quatre genres établis depuis plusieurs années (*Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus* et *Begomovirus*), trois autres genres (*Becurtovirus*, *Turncurtovirus* et *Eragrovirus*) ont été approuvés récemment dans la famille *Geminiviridae*. Parmi les genres les mieux caractérisés, les virus du genre *Mastrevirus* infectent principalement les plantes monocotylédones. L'espèce type est le **Maize streak virus** (MSV). Les mastrevirus possèdent un seul composant génomique (monopartite) qui code pour quatre protéines. Les virus du genre *Curtovirus* infectent les plantes dicotylédones. Le virus type est le **Beet curly top virus** (BCTV). Les mastrevirus et les curtovirus sont transmis par cicadelles (Hemiptera : Cicadellidae). L'unique espèce du genre *Topocuvirus*, le **Tomato pseudo-curly top virus** (ToPCTV), est transmis par une membracide (*Micrutalis malleifera* ; Hemiptera : Membracidae). Il possède un génome monopartite codant pour six protéines. Les virus du genre *Begomovirus* infectent les plantes dicotylédones et sont transmis par l'aleurode *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae). L'espèce type est le **Bean golden mosaic virus** (BGMV). Le génome viral est monopartite (ex. *Tomato yellow leaf curl virus*) ou bipartite (ex. *African cassava mosaic virus*). Les virus monopartites et bipartites sont communs dans l'Ancien Monde. En Afrique, exception faite des CMGs et de quelques espèces non assignées par l'ICTV décrites sur des plantes non cultivées comme l'*Asystasia gangetica* mosaic virus (non publié), la très grande majorité des bégomovirus décrits sont monopartites. A l'exception du *Tomato leaf deformation virus* (Melgarejo *et al.*, 2013), seuls des virus indigènes bipartites ont été décrits dans le Nouveau Monde sur plantes cultivées et non cultivées.

Réplication des géminivirus

Les géminivirus, qui codent seulement pour quelques protéines, utilisent les facteurs cellulaires de la plante hôte (comme l'ADN polymérase cellulaire) pour leur réplication. Elle s'effectue dans le noyau des cellules de la plante infectée et se fait selon le mécanisme du cercle roulant rencontré chez les bactériophages et la plupart des plasmides. Dans un premier temps, la forme répliquative double brin du virus (intermédiaire de réplication) est synthétisée à partir de l'ADN circulaire simple brin viral (forme encapsidée), par l'intermédiaire de la polymérase cellulaire (Saunders *et al.*, 1992). Dans un second temps, la protéine virale Rep se fixe sur les itérons (motifs répétés) dans la région intergénique et clive (↓) le brin viral au niveau de l'origine de réplication (site spécifique TAATATT↓AC). La réplication est initiée à partir de l'extrémité 5' du brin d'ADN. L'ADN simple brin synthétisé et libéré du complexe de réplication est encapsidé au niveau du noyau des cellules. Ce modèle de réplication en cercle roulant a été confirmé par microscopie électronique (Jeske *et al.*, 2001). Ces expériences associées à l'électrophorèse bidimensionnelle ont par ailleurs permis

l'identification d'intermédiaires additionnels de réplication compatibles avec un modèle de réplication dépendante de la recombinaison (RDR) (Jeske, 2009).

Organisation génomique des genres *Begomovirus* et *Mastrevirus*

Les bégomovirus monopartites possèdent un unique composant génomique, appelé ADN-A like, d'une taille d'environ 2800 pb tandis que le génome des bégomovirus bipartites est constitué de deux composants, appelé ADN-A et ADN-B, de taille similaire. Chacun des composants possède des gènes codant pour plusieurs protéines. L'ADN-A porte une région intergénique (intergenic region ou IR) et six cadres ouverts de lecture (régions codantes) ou ORFs (open reading frames) dont certains sont chevauchants (Brown *et al.*, 2011). Dans le sens viral, la protéine de capsid CP (ORF AV1/V1) est impliquée dans l'encapsidation et représente l'unité de base dans la constitution de la particule virale. La protéine MP (ORF AV2/V2) est associée au mouvement du virus. Les bégomovirus bipartites du Nouveau Monde ne possèdent pas l'ORF AV2. Dans le sens complémentaire, la protéine Rep (ORF AC1/C1) est associée à la réplication. La protéine TrAP (ORF AC2/C2) est une protéine activatrice de la transcription et est responsable de la transactivation des ORFs AV1 et BC1 (Sunter & Bisaro, 1997). La TrAP est également impliquée dans la suppression du mécanisme de *post-transcriptional gene silencing* (PTGS) (Vanitharani *et al.*, 2005; Voinnet *et al.*, 1999). La protéine REn (ORF AC3/C3) est une protéine activatrice de la réplication (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999). La protéine codée par l'ORF AC4/C4 semble être un déterminant majeur dans l'expression des symptômes, et également un suppresseur du PTGS (Vanitharani *et al.*, 2005). L'ADN-B porte deux ORFs qui codent pour deux protéines. La protéine MP (ORF BC1) est impliquée dans le mouvement de cellule à cellule de l'ADN viral tandis que la protéine NSP (ORF BV1) est impliquée dans le transport de l'ADN viral du noyau vers le cytoplasme à travers la membrane nucléaire (Sanderfoot *et al.*, 1996). L'ADN-A et l'ADN-B possèdent une région intergénique d'environ 200 pb comprenant l'origine de réplication (ori), les itérons (courtes séquences répétées), la région commune (CR) et la tige boucle (5' TAATATT ↓ AC 3').

Les mastrevirus ont un génome monopartite qui comprend quatre ORFs, V1 et V2 codés par le brin viral et, C1 et C2 (ORFs chevauchants), portés par le brin complémentaire. Les ORFs V1 et V2 codent respectivement pour la MP et la CP. Le transcrit qui porte les ORFs C1 et C2 code, après épissage, pour une Rep. Deux IRs séparent les deux paires d'ORFs, une grande appelée LIR qui porte l'ori et le promoteur bidirectionnel et une petite appelée SIR qui contient les deux signaux de terminaison des transcrits.

Présentation succincte des principaux modèles d'étude :

Les géminivirus sont responsables de viroses sur de nombreuses cultures d'importance économique et sociale dans le monde. En zones tropicales, ces virus affectent notamment les cultures vivrières comme le manioc (*Manihot esculenta*) et le maïs (*Zea mays*), et les cultures maraîchères comme la tomate (*Solanum lycopersicum*).

- Le mastrévirus africain responsable de la striure du maïs (MSV)

Le *Maize streak virus* (MSV) est responsable de la plus importante virose du maïs en Afrique subsaharienne où il est largement distribué (pour revue Shepherd *et al.*, 2010). Il est transmis par plusieurs espèces de cicadelles du genre *Cicadulina* (Hemiptera, Cicadellidae), mais surtout par *C. mbila* Naudé et *C. storeyi*. En plus du maïs, il peut infecter plus de 80 autres espèces de la famille des *Poaceae*. Tandis que 11 souches de MSV sont actuellement connues (noté MSV-A à MSV-K), seule la souche A (MSV-A) a été décrite comme responsable de symptômes sévères de la maladie de la striure du maïs ou *maize streak disease* (MSD) avec un impact économique significatif.

La MSD se manifeste par des stries chlorotiques alignées sur les feuilles, provoquant un retard de croissance sévère et souvent une incapacité à produire des épis à maturité. L'épidémiologie du MSV dépend principalement des facteurs climatiques agissant sur l'abondance de ses espèces vectrices dans les agrosystèmes. L'incidence de la maladie peut varier de quelques plantes infectées par champ, avec peu de pertes de rendement associé, à 100 % d'incidence et de pertes de rendement à l'échelle de la parcelle. La première épidémie de MSD a été décrite en 1896 par Claude Fuller en Afrique du Sud dans la région du Natal. Plus de 100 ans plus tard, la MSD reste la plus importante préoccupation virale d'une des plus importantes cultures vivrières de l'Afrique, avec des pertes estimées entre 120 et 480 millions de dollars US par an (Martin and Shepherd, 2009).

- Les bégomovirus monopartites de l'Ancien Monde (TYLCVs et ToLCVs)

Sur la base de leur organisation génomique, de leurs séquences génomiques et de leur origine, les bégomovirus ont été divisés en deux groupes : les bégomovirus du Nouveau Monde (*New World*, NW) et de l'Ancien Monde (*Old World*, OW) (Figure 2). Les bégomovirus natifs du NW sont bipartites et regroupés dans un cluster monophylétique (Abhary *et al.*, 2007; Navas-Castillo *et al.*, 2011). Les bégomovirus de l'OW, regroupant les bégomovirus originaires d'Asie, du sous-continent Indien et d'Afrique, peuvent être bi- ou monopartites, ces derniers étant souvent associés à des ADN satellites (Abhary *et al.*, 2007). Les bégomovirus monopartites africains et méditerranéens sont responsables de la maladie (du jaunissement et) de l'enroulement foliaire de la tomate ou *tomato (yellow) leaf curl disease* (TYLCD-ToLCD), dont le plus connu est le TYLCV. D'un point de vue taxonomique et sur la base de leurs relations phylogénétiques et leurs origines, tous les virus associés au TYLCD-ToLCD en Afrique sont apparentés et forment deux sous-groupes, les *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCVs-like) et les *Tomato leaf curl virus* (ToLCVs-like). Les TYLCVs-like comprennent actuellement six espèces nord africaines et méditerranéennes : TYLCV, *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV), *Tomato yellow leaf curl Axiarquua virus* (TYLCAxV), *Tomato yellow leaf curl Malagua virus* (TYLCMaIV), *Tomato yellow leaf curl Mali virus* (TYLCMLV) et *Tomato leaf curl Soudan virus* (ToLCSDV) et 15 souches différentes (Abhary *et al.*, 2007). Les ToLCVs-like appartiennent à neuf espèces d'Afrique subsaharienne : *Tomato curly stunt virus* (ToCSV), *Tomato leaf curl Arusha virus* (ToLCArV), *Tomato leaf curl Comoros virus* (ToLCKMV), *Tomato leaf curl Madagascar virus* (ToLCMGV), *Tomato leaf curl Mali virus* (ToLCMGV), *Tomato leaf curl Mayotte virus* (ToLCYTV), *Tomato leaf curl Seychelles virus* (ToLCSCV), *Tomato leaf curl Sudan virus* (ToLCSDV), *Tomato leaf curl Uganda virus* (ToLCUGV), dont de nombreuses espèces non encore assignées par l'ICTV (Brown *et al.*, 2012).

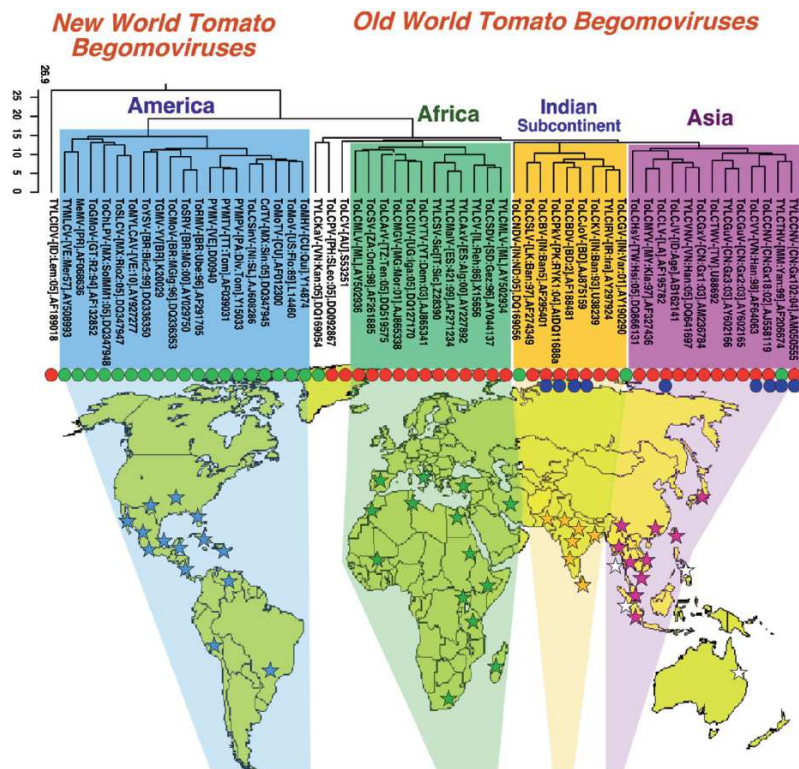


Figure 2. The diagram represents a world map on which each of the 57 members representing 57 begomovirus species as per the ICTV list of 2006. The upper part of the diagram shows a phylogenetic tree of these 57 viruses using their complete A component sequence. The Clustal V algorithm of the program MegAlign from DNASTar has been used and distances in percentage difference are indicated on the left. The tree shows a partition in 4 major clusters, America, Africa, the Indian subcontinent and Asia respectively in blue, green, orange, and purple colors, belonging to two branches called, NW Tomato Begomoviruses and OW Tomato Begomoviruses (D'après Abhary *et al.*, 2007).

La maladie du TYLCD-ToLCD est considérée comme une des plus importantes maladies de la tomate dans le monde, avec des dégâts considérables dans de nombreuses régions tempérées et tropicales. Les principaux symptômes de la maladie du TYLCD sont le nanisme des plants, l'enroulement en forme de cuillère des folioles et le jaunissement du limbe foliaire. Ils ont été observés pour la première fois en Jordanie dans les années 1939-1940, et décrits en 1964 sur tomate en Israël (Cohen, 1964). Le bégomovirus associé à cette maladie a été identifié dans les années 90 comme étant le TYLCV (Cohen and Antignus, 1994; Pico *et al.*, 1996). En Afrique, il a été décrit la première fois au Soudan (Yassin and Nour, 1965), puis c'est répandu dans tout l'Est africain. Le TYLCV s'est depuis largement répandu à travers le monde au cours des vingt dernières années, notamment dans le bassin méditerranéen, au Moyen-Orient, aux Etats-Unis et en Amérique Latine, en Asie, en Afrique, dans les Caraïbes et dans les îles de l'océan Indien (Pérfarres *et al.*, 2012).

- Les bégomovirus bipartites africains du manioc (CMGs)

La maladie de la mosaïque du manioc ou *cassava mosaic disease* (CMD) a été décrite pour la première fois en 1894 par Warburg dans l'actuelle Tanzanie (Warburg, 1894). Au début du XX^e siècle, elle a été détectée dans la majorité des pays d'Afrique subsaharienne (Pour revue Legg and Fauquet, 2004). Initialement, la CMD a été associée à une seule espèce virale l'*African cassava mosaic virus* (ACMV) (Bock and Harrison, 1985). Avec l'avènement de la biologie moléculaire et sur

la base du séquençage nucléotidique de leurs génomes complets, les *cassava mosaic geminiviruses* (CMGs) responsables de la CMD ont par la suite été assignées à trois espèces différentes : l'*African cassava mosaic virus* (ACMV) (Bock and Harrison, 1985), l'*East African cassava mosaic virus* (EACMV) (Swanson and Harrison, 1994), et l'*Indian cassava mosaic virus* (ICMV) caractérisé en Inde et au Sri Lanka (Harrison *et al.*, 1987). Les premières études réalisées sur la répartition géographique de ces trois espèces virales suggéraient une distribution distincte : l'ACMV principalement présent en Afrique de l'Ouest, l'EACMV principalement présent en Afrique de l'Est et l'ICMV en Inde et au Sri Lanka (pour revue Harrison and Robinson, 1999). En 1998, une quatrième espèce virale a été décrite en Afrique du Sud et nommée *South African cassava mosaic virus* (SACMV) (Berrie *et al.*, 1998). Ces deux dernières décennies, avec l'avènement de nouvelles stratégies de clonage et de séquençage qui ont facilité l'obtention de génomes complets, de nouvelles espèces de CMGs ont été décrites en Afrique avec l'*East African cassava mosaic Malawi virus* (EACMMV) (Zhou *et al.*, 1998), l'*East African cassava mosaic Cameroon virus* (EACMCV) (Fondong *et al.*, 2000), l'*East African cassava mosaic Zanzibar virus* (EACMZV) (Maruthi *et al.*, 2004) et l'*East African cassava mosaic Kenya virus* (EACMKV) (Bull *et al.*, 2006). Les analyses de recombinaison ont montré que ces nouvelles espèces, communément appelées EACMVs-like, étaient principalement le fruit de recombinaison entre l'EACMV et le SACMV (Ndunguru *et al.*, 2005). En Asie, une deuxième espèce a été décrite et nommée *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) (Saunders *et al.*, 2002). Basé sur le seuil de distinction taxonomique des bégomovirus de 89% (Fauquet *et al.*, 2008), neuf espèces de CMGs sont officiellement décrites dans le 9ème rapport de l'*International Committee on Taxonomy of Viruses* (Brown *et al.*, 2012).

La propagation de la CMD est liée à la fois à la transmission par l'insecte vecteur *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) qui transmet les virus de plante à plante (transmission horizontale), et à l'utilisation de boutures infectées, lors de la multiplication végétative de la plante (transmission verticale). Les symptômes de la CMD sont principalement des mosaïques et des déformations foliaires qui varient selon la sévérité de la maladie et le type de plante (résistante ou sensible à la CMD) (Hillocks and Thresh, 2000). Mais aucune différence évidente de symptômes n'a été observée selon l'espèce virale qui infecte la plante. Par contre, l'accentuation des symptômes de CMD par des phénomènes de synergie entre plusieurs espèces virales a été décrite à plusieurs reprises (Ariyo *et al.*, 2005; Fondong *et al.*, 2000; Patil and Fauquet, 2009; Pita *et al.*, 2001a). Les principales conséquences de la CMD sont les pertes de rendement en tubercules. Les nombreux travaux réalisés dans le but d'estimer les pertes économiques liées à la CMD ont montré que celles-ci varient entre 20% et 95%, selon les cultivars, l'incidence et la sévérité de la maladie et les types d'infections (infections simples ou mixtes) (Legg and Fauquet, 2004). En Afrique, les pertes de récoltes ont été estimées entre 19 et 27 millions de tonnes (MT) en 2003 pour une production totale de 97 MT (FAOSTAT, 2003).

3. Les vecteurs de virus, complices malgré eux des émergences virales (*responsable mais pas coupable !*)

*“ Etre transmis ou disparaître :
Adaptation des virus à leur vecteur “*

Les virus sont des parasites endocellulaires obligatoires dont la pérennité dépend bien sûr de leur capacité à se répliquer au sein de cellules hôtes, mais pas uniquement. En effet, les virus de plantes sont confrontés aux difficultés de la transmission, qui sont accentuées par le fait que leurs hôtes sont immobiles. Cela explique probablement pourquoi la majorité des stratégies de transmission adoptées par les phytovirus font appels à des organismes tiers dont notamment les invertébrés phytophages de type piqueur suceur (Brault *et al.*, 2010).

Les géminivirus sont considérés comme des virus circulants non multipliant, c'est à dire qu'ils circulent dans le corps de l'insecte et traverse plusieurs membranes cellulaires, celles de l'épithélium intestinal pour se retrouver dans le corps de l'insecte, et celles des glandes salivaires qui permettent leur évacuation par salivation dans une plante hôte (pour revue Ghanim *et al.*, 2014).

3.1. Comportement alimentaire d'une cicadelle vectrice du *Maize streak virus*

Au cours de mes recherches, nous nous sommes intéressés premièrement à disséquer les étapes du comportement alimentaire de *C. mbila* vectrice du MSV. En utilisant un système d'électrophysiologie nommé électropénétrographie (EPG), nous avons disséqués le comportement alimentaire de *C. mbila* en cinq profils (numérotés de 1 à 5 ; Lett *et al.*, 2001). Cette activité a été complétée en identifiant en microscopie électronique à transmission (MET) les tissus de plantes qui sont visités au moment de l'enregistrement des profils (Lett *et al.*, 2001). Cette approche a permis de déceler les phases du cycle alimentaire les plus favorables à l'acquisition du virus sur une plante infectée et l'inoculation du virus dans une plante saine.

3.1.1. Acquisition virale : Ingestion massive de particules virales à partir des cellules non phloémiennes

Notre approche en MET a permis de montrer qu'au cours de la pénétration des stylets de *C. mbila* dans le limbe foliaire pour atteindre les tubes criblés, l'insecte perce les parois et les membranes cellulaires de l'épiderme et du mésophylle, en construisant sa gaine salivaire. Certaines des cellules rencontrées dans la progression intracellulaire des stylets sont partiellement vidées de leur contenu cellulaire (Lett *et al.*, 2001 ; **Figure 3**).

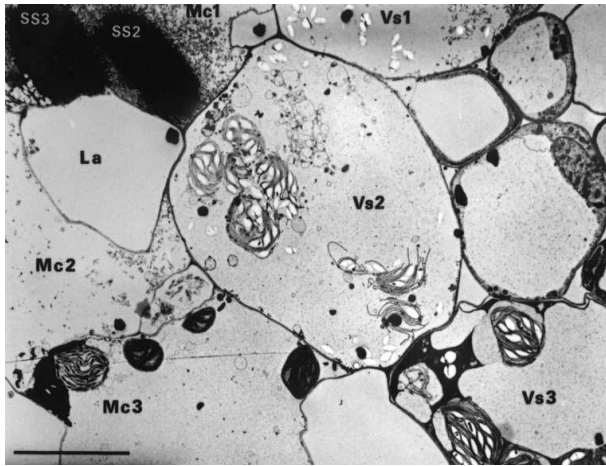


Figure 3. Cross sections of two salivary sheaths in a mesophyll cell, adjacent to a secondary vascular bundle. The vascular bundle sheath cell 1 (Vs1, partly shown) is partially emptied. Salivary sheaths SS2 and SS3 are located within a mesophyll cell (Mc1). SS2 is close to the vascular bundle sheath cell 2 (Vs2), which is also partially emptied of its cellular content. Note the scattered starch granules indicating chloroplast disruption suggesting intensive sucking and active ingestion. SS3 is in contact with the plasmalemma of Mc1 adjacent to an intercellular airspace or lacuna (La). The vascular bundle sheath cell 3 (Vs3) is apparently intact. Note saliva and/or degradation products in Mc1, Mc2, Mc3, Vs1 and Vs2. The bar represents 10 µm (D'après Lett et al., 2001).

Cette activité de « gobage » cellulaire, qui dure en moyenne une à deux minutes, est décrite pendant le profil EPG no. 2. Ce profil est caractérisé par un signal périodique régulier d'une fréquence de 5-7Hz, d'une amplitude et d'une régularité compatible avec la pompe alimentaire de l'insecte et une ingestion active. Comme cette phase de « gobage » est suffisamment puissante pour éclater des chloroplastes, on peut supposer que la membrane nucléaire pourrait également être rompue et que les **particules virales de MSV pourraient être massivement ingérées par le vecteur** au cours de cette phase d'alimentation active. Ces hypothèses sont compatibles avec les observations suivantes : (1) le MSV est détecté dans la plupart des types tissulaires de la plante dont les cellules épidermiques et le mésophylle (Bigarré et al., 1999), et (2) *C. mbila* est capable d'acquérir le MSV suite à une période d'alimentation de quelques secondes sur plantes virosées puis de le transmettre pendant toute sa durée de vie (Storey, 1938 ; Reynaud, 1988).

3.1.2. Inoculation virale : phase de salivation dans le phloème

Nos travaux en EPG et en MET suggèrent que la phase de l'alimentation de la cicadelle la plus favorable à la libération du virus dans la plante est celle associée au profil EPG no. 4 (Lett et al., 2001). Le spectre des fréquences montre un pic majeur à 0,4Hz. Cette fréquence est similaire à celle qui a été enregistrée pour le profil EPG E1 chez les pucerons et qui a été associée à l'activité de la pompe salivaire dans les tubes criblés (Martin et al., 1997). Les observations en microscopie indiquent effectivement que l'extrémité des stylets était localisée dans les tubes criblés au moment de l'enregistrement du profil 4 et qu'il y a eu production de salive. Par conséquent, les activités de salivation dans le phloème semblent particulièrement bien adaptées à l'inoculation du MSV par les cicadelles vectrices. Ces données confirment la corrélation démontrée par Kimmins et Bosque-Perez (1996), entre le passage au EPG no. 4, ainsi que sa durée, et l'efficacité de la transmission du MSV par *C. storeyi*. L'utilisation de l'EPG a permis à Jiang et al. (2000) de corréler la salivation dans le phloème (signal E1) avec la transmission à la tomate du TYLCV par le biotype B de *B. tabaci* (actuellement connu sous le nom de *Middle East-Asia Minor 1*, cf. paragraphe 4.1). Un temps minimal de 1,8 min de contact avec le phloème pour obtenir une transmission du virus a été enregistré.

Nos travaux associés aux données actuelles sur le comportement alimentaire des trois principales familles de vecteurs de virus circulants non multipliants (pucerons, aleurodes et cicadelles), suggèrent que le comportement alimentaire est un ensemble d'activités multiples et complexes dont certaines sont intimement liées à la transmission virale.

3.2. Dynamique du virus dans son insecte vecteur

Les virus circulants et multipliants sont majoritairement capables de se transmettre à la descendance du vecteur et considérés comme des virus d'insectes phytophages ayant acquis au cours de l'évolution les fonctions nécessaires à leur réplication et propagation dans les plantes. Au contraire, les virus circulants non multipliants traversent les parois cellulaires de leur vecteur sans se répliquer. Malgré cette absence de réplication, la plupart de ces virus persistent dans leur vecteur pendant plusieurs semaines voir jusqu'à la mort de l'insecte. Bien que des progrès importants dans la compréhension de la transmission circulante non multipliante des lutéovirus par pucerons ont été réalisés (pour revue Brault *et al.*, 2010 ; Herrbach *et al.*, 2013), le mystère de la persistance à vie des géminivirus dans leur vecteur, suite à une alimentation infectieuse, et du statut de leur mode de transmission reste intact.

Au cours de mes recherches, nous nous sommes intéressé à **élucider l'énigme de la persistance et de la réplication des géminivirus au sein de leur vecteur** en étudiant (1) l'acquisition et la persistance virale, (2) la colonisation des différents compartiments de l'insecte impliqués dans la transmission circulante et (3) les cinétiques des charges virales et les flux entre les compartiments en utilisant différentes approches basées sur la PCR en temps réel et la microscopie. Cette activité a été réalisée sur deux modèles : MSV/*C. mbila* (Lett *et al.*, 2002 ; Ammar *et al.*, 2009) et TYLCV/*B. tabaci* (Becker *et al.*, en prép.).

3.2.1. Les barrières à la transmission circulante

L'utilisation de couples mastrévirus/espèces de cicadelles du genre *Cicadulina* compatibles et incompatibles pour la transmission du MSV, nous a permis de montrer que la paroi intestinale représente une barrière physique à la transmission circulante non multipliante des géminivirus par cicadelle (Lett *et al.*, 2002). En effet, dans le cas d'un mastrévirus non transmis par une espèce de cicadelle du genre *Cicadulina*, le virus est restreint au tractus intestinal. En l'absence d'acquisition de nouvelles particules de MSV, la charge virale estimée en qPCR diminue rapidement (**Figure 4** ; Lett *et al.*, 2002). Cette diminution est très certainement liée à la digestion enzymatique, dans la lumière intestinale et dans les cellules épithéliales, et au transit intestinal, ainsi qu'à l'absence de stockage et de préservation des virions. Il en est de même pour le couple incompatible TYLCV/*Trialeurodes vaporariorum* (*Aleyrodidae*) pour lequel les travaux en microscopie ont montré que le virus est restreint à la lumière du tractus intestinal (Onishi *et al.*, 2009 ; Uchibori *et al.*, 2013). Dans le cas des couples compatibles MSV/*C. mbila* et TYLCV/*B. tabaci*, les virus sont présents, persistent et s'accumulent dans les trois compartiments impliqués dans la transmission circulante : le tractus intestinal, l'hémolymph et les glandes salivaires (Lett *et al.*, 2002 ; Becker *et al.*, en préparation). En conclusion, à l'inverse de la spécificité de transmission du modèle

Luteoviridae/puceron où la paroi intestinale ne représente pas une barrière majeure à l'acquisition virale (Gildow, 1993), les géminivirus transmis par cicadelles et *B. tabaci* semblent incapables de traverser la paroi intestinale des insectes non vecteurs. L'existence de cette **barrière intestinale spécifique** accentue les divergences déjà observées, entre le modèle Geminiviridae/cicadelle et aleurode et le modèle *Luteoviridae*/puceron, et rend les transpositions entre les modèles d'autant plus difficiles et risquées.

La non transmission du DSV par le genre *Cicadulina*, même en court-circuitant la paroi intestinale et malgré une ressemblance génétique importante pour le MSV, suggère l'existence d'une deuxième barrière à la transmission des géminivirus par cicadelle (Lett *et al.*, 2002). Elle pourrait être déterminée par le passage à travers les glandes salivaires et/ou la survie dans l'hémolymphe. En effet, l'intervention de protéines homologues de GroEL, produites par les bactéries endosymbiotiques secondaires, dans la persistance virale dans l'hémolymphe a été montrée pour les *Luteoviridae* transmis par puceron (Van den Heuvel *et al.*, 1994, 1997) et pour le TYLCV transmis par *B. tabaci* (Morin *et al.*, 1999 ; Gottlieb *et al.*, 2010).

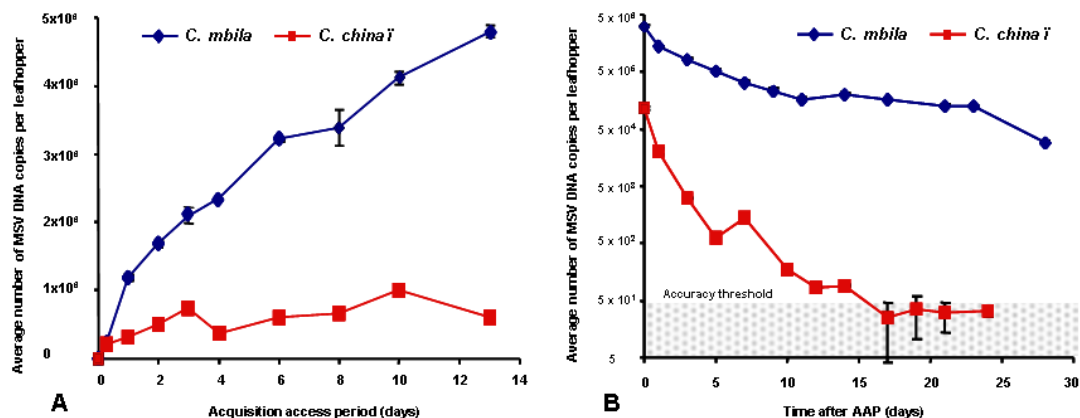


Figure 4. Accumulation (A) and persistence (B) kinetics of Maize streak virus (MSV) in leafhoppers of the vector species *Cicadulina mbila* and of the non-vector species *C. chinai*, (A) during a sustained feeding on maize plants infected with MSV after agroinoculation and (B) maintained on non-host millet plants after a 3-day acquisition access feeding period (AAP) on MSV-infected maize plants. Ten whole insects, collected and frozen at each sampling time were tested by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Bars = standard error of the mean of replicates. The detection threshold is indicated by the dotted line (D'après Lett *et al.*, 2002).

3.2.2. Accumulation forte de l'ADN viral dans le vecteur

L'augmentation graduelle de la quantité d'ADN viral de MSV détectée chez *C. mbila* (1×10^6 copies d'ADN viral/insecte au bout de 48 heures ; figure 4 ; Lett *et al.*, 2002), et l'augmentation forte et équivalente de l'ADN viral des souches IL et Mld du TYLCV quantifiée au sein de *B. tabaci* ($8,45 \times 10^6$ copies d'ADN viral/insecte au bout de 48 heures ; **Figure 5** ; Becker *et al.*, en préparation), lors d'une alimentation continue sur une plante virosée, confirment que les insectes vecteurs de géminivirus ont **la capacité d'emmagasiner des quantités très importantes d'ADN viral**. Nos résultats sont par ailleurs compatibles avec les données de la littérature sur la capacité de ces insectes vecteurs à emmagasiner de fortes quantités de protéine de capsid du MSV (Reynaud & Peterschmitt, 1992) et du TYLCV (Czosnek *et al.*, 2001). Par contre, **nos cinétiques d'accumulation de l'ADN viral dans leur vecteur ne suggèrent pas l'existence d'un plateau d'accumulation ou d'un seuil de charge maximal** proposé précédemment sur les

modèles TYLCV/*B. tabaci* et *Squash leaf curl virus*/*B. tabaci* (respectivement, Czosnek *et al.*, 2001 et Rosell *et al.*, 1999). De plus, l'accumulation exponentielle de la quantité d'ADN viral du TYLCV au sein de *B. tabaci* (Représentée par une droite rouge en échelle logarithmique, **Figure 5**), 8 fois supérieure à celle estimée pour le couple MSV/*C. mbila* pendant les 48 premières heures d'alimentation infectieuse, soulève encore une fois la question de la réplication du TYLCV dans son insecte vecteur. En effet, cette possibilité avait été proposée notamment suite à la publication de résultats controversés sur (1) l'existence d'une transmission transovarienne du TYLCV à la descendance d'une femelle virulifère du biotype B de *B. tabaci* et ceci sur deux générations (Ghanim *et al.*, 1998) et (2) la présence d'une activité de transcription des cadres de lecture (ORFs) du virus dans les cellules de l'insecte vecteur (Sinisterra, 2005), qui argumentent l'hypothèse de la multiplication du virus dans son insecte vecteur *B. tabaci* (pour revue Czosnek *et al.*, 2012).

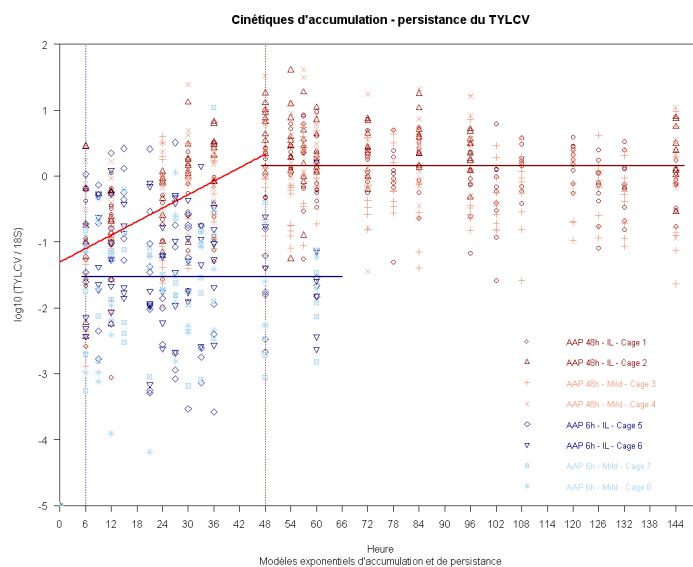


Figure 5. Accumulation and persistence kinetics of Israel (IL) and Mild (Mld) strains of TYLCV in the whitefly vector *Bemisia tabaci*, during a sustained feeding on tomato plants infected with TYLCV strains after agroinoculation and maintained on non-host cabbage plants after a 6 or 48 h acquisition access feeding period (AAP) on TYLCV-infected tomato plants. Normalized viral loads per insect are shown in logarithmic scale.

Afin de répondre à cette question, nous avons premièrement suivi l'évolution de la charge virale des souches IL et Mld du TYLCV dans les insectes virulifères transférés sur des plantes non hôtes du virus (**Figure 5** ; Becker *et al.*, en prép.). Au cours de cette phase de jeûne viral, nous observons le maintien de la charge virale, quel que soit la souche virale et la durée d'alimentation infectieuse (AAP 6 heures versus AAP 48 heures), alors que les charges virales atteintes au cours de l'alimentation infectieuse sont significativement différentes (74 fois plus d'ADN de TYLCV pour une AAP de 48 heures). Aucune différence de quantité d'ADN viral n'a été observée entre les deux souches virales du TYLCV malgré des différences significatives d'efficacité de transmission (Péréfarres *et al.*, 2014).

Deuxièmement, nous avons élaboré une PCR quantitative asymétrique capable de quantifier la forme complémentaire de l'ADN viral associée à la forme répliquative double brin des géminivirus et utilisé cet outil comme marqueur de la réplication virale (Becker *et al.*, en prép.). Notre détection de la forme répliquative du virus dans les insectes entiers aurait pu argumenter la réplication du virus dans l'insecte. Cependant, contrairement au modèle généralement accepté du mouvement du virus dans la plante sous forme d'ADN simple brin, les récents travaux de Gilbertson *et al.* (2013)

suggèrent que le mouvement des géminivirus dans la plante ferait intervenir l'ADN double brin sous la forme de mini chromosome, que l'insecte pourrait ingérer à partir de la sève élaborée. Par conséquent, notre détection dans l'insecte du brin viral complémentaire n'est pas forcément la signature de la réplication du virus dans l'insecte. De manière équivalente aux cinétiques du brin viral des deux souches de TYLCV dans les insectes entiers, les cinétiques du brin complémentaire se traduisent par des tendances générales à l'augmentation au cours de la période d'alimentation infectieuse. Par contre, on observe une décroissance rapide du brin complémentaire (forme répliquative) pendant la période de jeûne virale. En conclusion, l'ensemble de nos observations concernant (1) **le maintien de la forme virale et la diminution de la forme répliquative dans les insectes** après une période d'alimentation infectieuse et (2) **l'absence de transmission transovarienne** des souches IL et Mld du TYLCV à la descendance d'une population réunionnaise du biotype B de *B. tabaci*, soutiennent l'hypothèse d'une **transmission du TYLCV selon le mode circulant non multipliant**.

3.2.3. Conservation de l'ADN viral dans l'épithélium intestinal et les glandes salivaires

La persistance des ADNs du MSV et du TYLCV dans les différents compartiments de leurs insectes vecteurs, respectivement de *C. mbila* et de *B. tabaci*, est compatible avec leur capacité à rester infectieux durant toute leur durée de vie (Lett *et al.*, 2002 ; Becker *et al.*, en prép.). Cependant, la persistance d'une forte charge virale dans le tractus intestinal et dans les glandes salivaires des deux espèces vectrices suggère que ces organes représentent le **lieu de persistance principal des particules virales dans l'insecte**. L'hémolymphe semble jouer le rôle de compartiment de transit et d'échange entre l'intestin et les glandes salivaires, et non pas celui d'un lieu de stockage privilégié des virions. Cette observation est contraire au « dogme » qui considère que l'hémolymphe est le principal compartiment réservoir des virus circulants non multipliant. Cette hypothèse, qui à ma connaissance n'a jamais été démontrée par des tests quantitatifs, est basée sur les travaux concernant le modèle Luteoviridae/puceron (Van den Heuvel *et al.*, 1994, 1997). Par transposition, elle a été proposée pour les géminivirus et les nanovirus transmis selon le même mode (Franz *et al.*, 1998).

La possibilité de pouvoir détecter la progression virale et les flux viral à travers les compartiments impliqués dans la transmission circulante non multipliant, nous a permis de proposer un modèle dynamique de transmission d'un géminivirus par cicadelle et par *B. tabaci* (Lett *et al.*, 2002 ; Becker *et al.*, en prép.). Nos résultats suggèrent **un flux polarisé de l'ADN viral, qui va de l'intestin vers les glandes salivaires via l'hémolymphe**.

3.2.4. Préservation de pseudo-particules virales dans les cellules de l'épithélium intestinal

Les observations microscopiques réalisées sur le tube digestif d'individus de *C. mbila* virulifères confirment que c'est dans cet organe que l'accumulation d'ADN de MSV est la plus forte. Le virus s'accumule dans le tube digestif sous forme de **structures paracrystallines** entourées ou non d'une membrane (Ammar *et al.*, 2009 ; **Figure 6**).

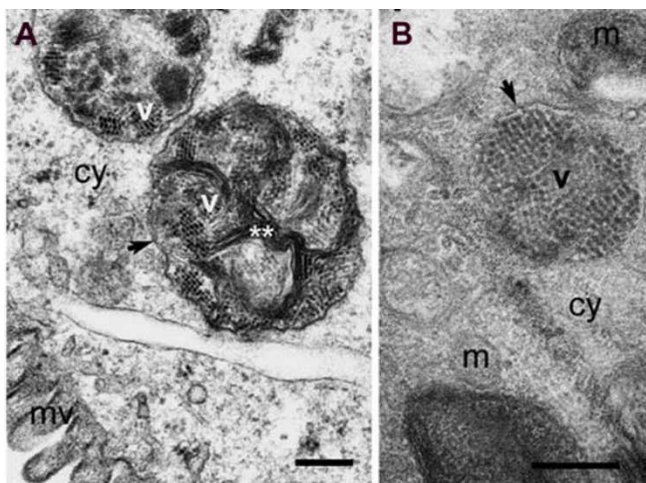


Figure 6. Thin sections from osmium-fixed alimentary canals of *Cicadulina mbila* that fed for 14 days (A-B) on MSV-infected maize. Large paracrystalline accumulations of MSV-like particles (v) in the cytoplasm (cy) of midgut epithelial cells of MSV-exposed *C. mbila*. A membrane enclosing the paracrystalline arrays can be observed (arrows). Microvilli (mv), mitochondrion (m). The bar represents 200 nm (D'après Ammar *et al.*, 2009).

Ces structures apparaissent dès le 3^e jour d'AAP, se maintiennent en l'absence de plante virosée et sont compatible avec la persistance de la capacité de transmission des cicadelles. Ces pseudo-particules virales semblent captées par la voie des lysosomes ou endosomes mais résisteraient à leur arsenal de dégradation. Aucune de ces structures paracrystallines n'a été observée chez la cicadelle non vectrice, *C. chinaii*, ce qui peut s'expliquer par l'absence de pénétration du virus dans les cellules épithéliales et/ou par une incapacité du virus à résister à la voie de dégradation des endosomes. Les vésicules à clathrine (i.e. protéine structurelle constituant l'enveloppe des vésicules mantelées), observées lors de la transmission circulante des virus de la famille *Luteoviridae* par puceron (Brault *et al.*, 2007), n'ont pas été observées pour la transmission circulante du MSV par *C. mbila* (Ammar *et al.*, 2009) ou du TYLCV par *B. tabaci* (Uchibori *et al.*, 2013). Un mécanisme d'endocytose indépendant des vésicules à clathrine a été décrit récemment pour un virus icosaédrique animal de 50 nm de diamètre, le *Simian virus 40* (Engel *et al.*, 2011). Il s'agit d'une endocytose dépendante de raft lipidique formant des vésicules de petites tailles, compatible avec la taille des particules de géminivirus (20 x 30 nm). Plus récemment encore, la description du mouvement des géminivirus dans leur plante hôte sous la forme de minichromosome viral, formé d'ADN double brin, d'histones et de protéines virales (Gilbertson *et al.*, 2013), ouvre la porte à de nouveaux scénarios, dont notamment l'existence de morphes viraux impliqués dans le mouvement à travers le vecteur et la transmission (Blanc *et al.*, 2011).

3.2.5. Taille du goulot d'étranglement induit par un insecte vecteur sur une population virale transmise selon le mode circulant non multipliant

En plus de leur rôle majeur dans la diffusion de virus, les vecteurs ont également un impact sur la dynamique évolutive des populations virales par l'importance de la sélection et de la dérive génétique, qui accompagnent chaque événement de transmission horizontale. La taille du goulot d'étranglement que subissent les populations virales du TYLCV-IL et -Mld transmis par le biotype B de *B. tabaci* a été estimée à partir des données d'efficacité de transmission et par une approche de maximum de vraisemblance, en calculant le nombre de particules virales efficaces transmises et plus précisément le nombre de génomes viraux inoculés et qui participent à la génération suivante (Péréfarres *et al.*, 2014). Nous avons ainsi estimé deux particules virales efficaces pour la souche IL contre une particule virale efficace pour la souche Mld. Nous avons ainsi démontré que même

pour un virus transmis selon le mode circulant par un insecte porteur de millions de génomes viraux (Cf. paragraphe 3.2.2), **un à deux génomes viraux seulement participent efficacement au cycle de transmission suivant**. Ces estimations, qui peuvent paraître étonnamment basses, sont cependant similaires à celles calculées pour les virus transmis selon le mode non circulant (Moury *et al.*, 2007 ; Betancourt *et al.*, 2008). Cette troisième estimation du nombre de particules virales efficaces transmises par un insecte vecteur confirme que les virus de plantes sont soumis à des goulots d'étranglement très étroits pendant le processus de transmission horizontale, même pour un virus comme le TYLCV transmis par *B. tabaci* selon le mode de transmission circulant non multipliant.

3.2.6. Relation entre accumulation virale dans la plante et efficacité de transmission par insecte : peut-être pas aussi simple ...

Une relation directe et positive entre l'abondance du virus dans la plante (*fitness*) et le taux de transmission est généralement acceptée, même si les études sur les virus circulants sont rares (Froissart *et al.*, 2010). Au cours de notre étude sur les dynamiques épidémiologiques des souches IL et Mld du TYLCV dans l'environnement insulaire et tropical de La Réunion (Confère paragraphe 4.2.1.), nous avons comparé expérimentalement l'efficacité de transmission et la *fitness* des deux souches de TYLCV (Péréfarres *et al.*, 2014). Nous avons pu démontrer qu'en infection simple la souche IL, qui s'accumule plus rapidement et en plus grande quantité dans la plante, est également mieux transmise que la souche Mld (**Figure 7A**). L'explication la plus simple serait de faire intervenir un mécanisme d'action de masse selon lequel plus la charge virale est importante dans la plante, plus elle sera importante dans l'insecte et plus le taux de transmission du virus sera élevé. Cependant, malgré une charge virale du TYLCV-IL six fois plus importante que le TYLCV-Mld dans la plante, aucune différence n'a été observée dans l'insecte (**Figure 7B**). Par conséquent, le lien observé entre l'abondance virale dans la plante et l'efficacité de transmission semble moins « direct » qu'en apparence. Ces résultats mettent en lumière que l'efficacité de transmission n'est pas seulement lié au nombre de particules ou génomes viraux qu'un insecte est capable de capter d'une plante virosée et d'inoculer dans une plante, mais également l'efficacité avec laquelle un virus est effectivement capable d'infecter une plante.

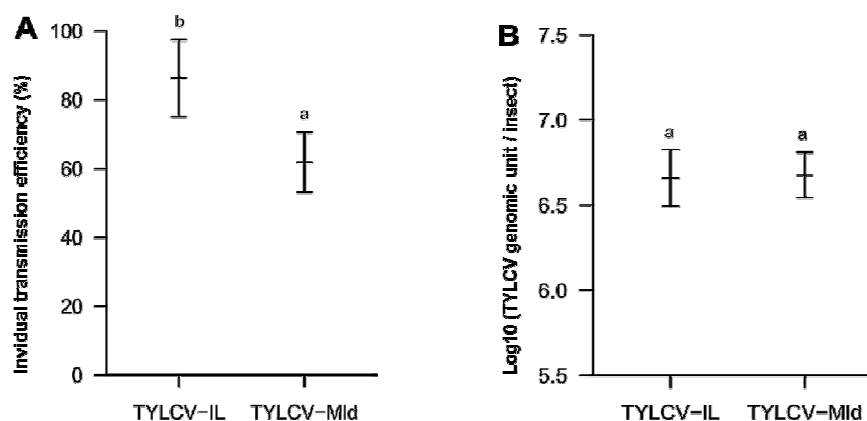


Figure 7. A Individual transmission experiments conducted from tomato infected by *Tomato yellow leaf curl virus*-Mild (TYLCV-Mld) or -Israel (TYLCV-IL) with *Bemisia tabaci* adult females from colonies of biotypes B. Vertical bars around each point represent the 95% confidence interval and the bars topped by the same letter are not significantly different at $p = 0.01$ (Tukey's all-pair comparison test). **B** Logarithm of the number of viral

genomes of Reunion isolates of TYLCV-Mld and TYLCV-IL per individual *B. tabaci* estimated by quantitative polymerase chain reaction after a 72h acquisition access period. Vertical bars around each point represent the 95% confidence interval and the bars topped by the same letter are not significantly different at $p = 0.01$ (Fisher-Snedecor's test) (D'après Péréfarres *et al.*, 2014).

Ces travaux ont été réalisés en partie dans le cadre de ma thèse de doctorat sous la responsabilité de Michel Peterschmitt et de Bernard Reynaud, de la thèse de Frédéric Péréfarres (2008-2011), que j'ai encadré, et de ma collaboration avec Michel Peterschmitt et Gaël Thébaud de l'UMR BGPI CIRAD-INRA et de Nathalie Becker du MNHN. Les résultats ont été publiés dans cinq articles scientifiques, deux chapitres d'ouvrage et un article de vulgarisation.

- Lett, J.-M.**, B., Reynaud, & M., Peterschmitt, (2000). Les mécanismes de la transmission circulante des virus de végétaux par insectes piqueurs-suceurs. *Virologie*, 5, 169-181.
- Lett J.-M.**, M. Granier, M. Grondin, P. Turpin, F. Chiroleu, M. Peterschmitt and B. Reynaud (2001). Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101, 93-109. [IF : 1,54 ; NC : 16]
- Lett J.-M.**, M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud and M. Peterschmitt (2002). Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative PCR. *Phytopathology*, 92, 65-74. [IF : 2,8 ; NC : 16]
- Ammar E.D., D. Gargani, **J.-M. Lett** and M. Peterschmitt (2009). Large accumulations of Maize streak virus in epithelial cells of the filter chamber of the leafhopper vector *Cicadulina mbila*. *Archives of Virology*, 154, 255-262. [IF : 2,11 ; NC : 8]
- Etienne Herrbach, Nicolas Sauvion, Elisabeth Boudon-Padieu, **Jean-Michel Lett**, Bernard Reynaud et René Sforza (2013). Une relation trophique originale : La vection entomophile d'agents pathogènes. Editeurs Denis Thiery, Paul-André Calatayud, Nicolas Sauvion, Frédéric Marion-Poll dans *Des Insectes et des Plantes*, Editions IRD-Quae, Partie 6, Chapitre 31, pp 1-24.
- Anders Kvarnheden, **Jean-Michel Lett**, **Michel Peterschmitt** (2014). Mastreviruses transmission. Editor Judith Brown in *Vector-Mediated Transmission of Plant Pathogens*, APS, in press.
- Péréfarres F.**, Thébaud G., Lefeuvre P., Chiroleu F., Rimbaud L., Hoareau, M., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2014). Frequency-dependent assistance as a way out of competitive exclusion between two strains of an emerging virus. *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences*, 281, 20133374.
- Becker N.**, Rimbaud L., Chiroleu F., Reynaud B., Thébaud G. and **J.-M. Lett** (2014). High capacity of accumulation and preservation of TYLCV in its insect vector *Bemisia tabaci*. *PLoS ONE*, en préparation.

4. Emergence de nouvelles maladies virales : Invasions biologiques et changements d'hôte

«Je suis très inquiet à l'idée de ce qu'il adviendrait d'une population indemne jusqu'ici, si un nouvel agent infectieux, venu d'ailleurs, venait à s'y propager.»

Charles Nicolle – *Destin des maladies infectieuses*, 1933

Lauréat du Prix Nobel de Médecine

Les principaux facteurs écologiques associés aux émergences virales chez les plantes sont les invasions biologiques avec les introductions d'agents pathogènes dans des nouveaux environnements (71% des cas) et les changements des populations d'insectes vecteurs (16%) (Anderson *et al.*, 2004). Dans le cas des géminivirus, nos études ont montré que ces facteurs écologiques se traduisaient principalement par le déplacement à longue distance de certaines populations invasives d'insectes vecteurs, la dissémination de certaines souches ou espèces virales, et l'introduction d'espèces cultivées exotiques et sensibles aux géminivirus dans de nouveaux environnements.

4.1. Déplacement à longue distance et changement des populations de vecteurs

B. tabaci appartient à un complexe d'espèces cryptiques communément appelées biotypes (Dinsdale *et al.*, 2010). Certaines espèces cryptiques particulièrement invasives ont connu une expansion mondiale à la fin des années 1980, comme l'espèce cryptique *Middle East-Asia Minor 1* (MEAM1), couramment appelée biotype B (Bedford *et al.*, 1994). Contrairement aux espèces cryptiques indigènes de *B. tabaci*, l'espèce MEAM1 présente une gamme de plantes hôtes plus large favorisant (1) l'émergence de bégomovirus initialement inféodés aux plantes non cultivées indigènes ou endémiques et (2) la propagation de virus exotiques et émergents, dont le plus emblématique est le TYLCV.

L'invasion de La Réunion par l'espèce invasive MEAM1

Fin 1997, les premières épidémies de TYLCD à la Réunion ont également été accompagnées des premières descriptions de pullulations d'aleurodes sur les plantes maraîchères, adventices et ornementales (Delatte *et al.*, 2005). Pendant les douze années suivantes, le suivi épidémiologique et les analyses génétiques des populations d'aleurodes ont démontré la présence d'une espèce exotique et invasive MEAM1 de *B. tabaci*, d'une espèce indigène de *B. tabaci* nouvellement décrite de la région du Sud-Ouest de l'océan Indien (espèce cryptique IO pour *Indian Ocean* ou biotype MS pour Mascareignes), et d'une population hybride issue de plusieurs générations de croisements entre les espèces cryptiques MEAM1 et IO de *B. tabaci* (Delatte *et al.*, 2006 ; Thierry *et al.*, 2011 ; **Figure 7**). La découverte d'un biotype indigène dans les îles des archipels des Mascareignes, des

Comores, des Seychelles et de Madagascar était cohérente avec les descriptions anciennes de *B. tabaci* à La Réunion. La description d'un biotype connu pour son caractère invasif et sa polyphagie était quant à elle compatible avec la nouvelle distribution des populations de *B. tabaci* sur l'île et l'émergence du TYLCV sur les cultures maraîchères. Les données actuelles ne permettent pas de savoir si l'introduction accidentelle d'individus de MEAM1 virulifères et infectieux est directement responsable de l'introduction du TYLCV à La Réunion, ou si l'épidémie de TYLCD est le fruit de l'introduction séparée mais concomitante de MEAM1 et du TYLCV. La première description de MEAM1 à l'île Maurice voisine en 1998 (Ganeshan & Abeeluck, 2000), en l'absence d'épidémie de TYLCD, supporte le deuxième scénario. Les données actuelles suggèrent que le succès de la dissémination rapide du TYLCV dans toute la zone de production maraîchère de La Réunion est de la responsabilité de l'espèce invasive MEAM1 de *B. tabaci*.

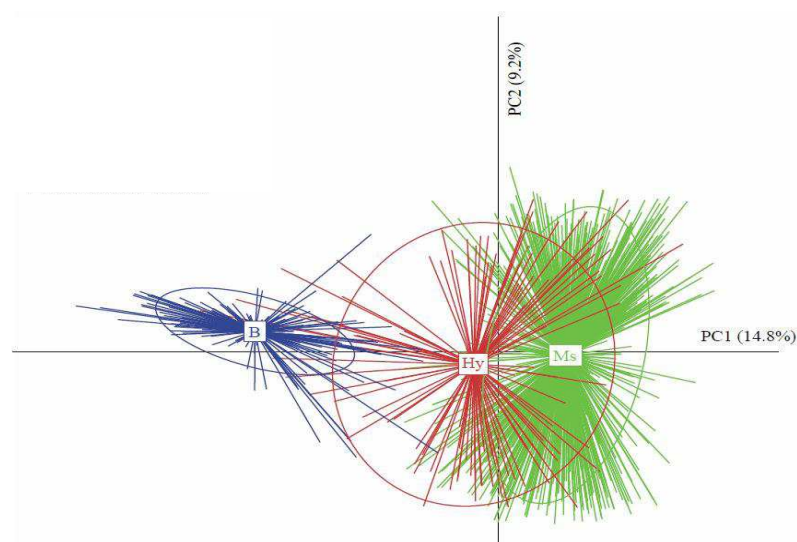


Figure 7. Multivariate analysis of *Bemisia tabaci* populations in Reunion Island. First and second components of a principal component analysis of 10-loci microsatellites from *B. tabaci* females from the three populations MEAM1 (biotype B), Hybrids (Hy) and Indian Ocean (biotype Ms) defined by STRUCTURE analysis. The relative contributions of the two first axes (PC1 and PC2) to the total genetic variation are 14.8% and 9.2% respectively. Populations are labeled inside their 95% inertia ellipses (D'après Thierry *et al.*, 2011).

Chez les insectes piqueurs-suceurs, les bactéries endosymbiotiques jouent un rôle capital dans la biologie, l'écologie et l'évolution de leurs hôtes (pour revue Oliver *et al.*, 2010). Chez *B. tabaci*, l'importante diversité de ces bactéries endosymbiotiques a suscité un grand intérêt pour leur implication potentielle dans la biologie et l'évolution de ce complexe d'espèces cryptiques. L'analyse de la diversité du cortège endosymbiotique des trois populations de *B. tabaci* de La Réunion a ainsi permis de mettre en évidence des hybridations non aléatoires, avec des accouplements favorisant les femelles IO avec des males MEAM1 (Thierry *et al.*, 2011). Enfin, les données écologiques et moléculaires analysées sur cinq périodes d'échantillonnage entre 2001 et 2010 montrent que les deux espèces cryptiques MEAM1 et IO présentent différentes préférences d'habitat. L'espèce invasive MEAM1 montre une préférence pour l'habitat cultivé et l'espèce indigène IO pour l'habitat non cultivé. Ces préférences d'habitat semblent contribuer à un isolement reproducteur prézygotique compatible avec une prévalence faible de la population d'hybrides.

Ces travaux ont été réalisés par Hélène Delatte et par Magali Thierry, deux étudiantes que j'ai respectivement co-encadrée et soutenue en thèse. Les résultats ont été publiés dans trois articles scientifiques, un chapitre d'ouvrage et une revue.

Delatte H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, **J.-M. Lett**, R. Goldbach and M. Peterschmitt, (2005). A new silverleaf inducing biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous from the islands of the South West Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research*, 94, 29-35. [IF : 1,88 ; NC : 34]

Delatte H., David P., Granier M., **Lett J.-M.**, Goldbach R., Peterschmitt M., Reynaud B (2006). Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetics Research*, 87 (2): 109-124. [IF : 1,71 ; NC : 19]

Delatte H., **Lett J.-M.**, Lefeuvre, P., Reynaud, B., and P., Peterschmitt (2007). An insular environment before and after TYLCV introduction. Editor Henryk Czosnek in *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease*. Springer, pp. 13-23.

Thierry M., N. Becker, A. Hajri, B. Reynaud, **J.-M. Lett** and **H. Delatte** (2011). Diversity of secondary symbionts and genetic structure among *Bemisia tabaci* populations in Reunion Island. *Molecular Ecology*, 20, 2172-2187. [IF : 5,52 ; NC : 7]

Pérefarres F., **Thierry M.**, Lefeuvre P., Becker N., Reynaud, B., **Delatte H.** and **J.-M. Lett** (2012). Biological invasions of phytoviruses transmitted by arthropod vectors: the case study of TYLCV and *Bemisia tabaci* in Reunion Island. *Viruses*, 4, 3665-3688. [IF : NA ; NC : 0]

4.2. Dissémination virale

L'introduction d'agents pathogènes dans un nouvel environnement représente la première cause d'émergence de nouvelles maladies virales (Anderson *et al.*, 2004). Au cours de mes recherches, nous nous sommes intéressés principalement à l'étude de l'émergence virale à trois échelles spatiales : l'échelle d'un bassin maraîcher (TYLCV), régionale (CMGs) et mondiale (TYLCV).

4.2.1. La chronique du TYLCV en campagne à La Réunion : une expérience grandeur Nature

L'invasion de La Réunion par le TYLCV-Mld : un succès de plus

En septembre 1997, des symptômes typiques de la maladie du TYLCD ont été observés sur des cultures de tomate dans le Sud de l'île de La Réunion à proximité de Saint-Pierre (Peterschmitt *et al.*, 1999). En quelques mois, la maladie s'est installée dans tout le bassin maraîcher de l'île pour devenir le principal facteur limitant de la production de tomate (Delatte *et al.*, 2007). La caractérisation moléculaire de l'agent causal a permis d'identifier la souche Mild du TYLCV (TYLCV-Mld ; Delatte *et al.*, 2005b). En se basant sur l'alignement du génome complet d'un isolat réunionnais (TYLCV-Mld [RE:02]) avec les séquences disponibles dans les banques mondiales, les identités nucléotidiques les plus élevées ont été obtenues avec des isolats du TYLCV-Mld isolés au Japon en 1996 (99,1% d'identité nucléotidique avec le TYLCV-Mld [JR:Shz:96]), au Portugal en 1995 (98,8% d'identité nucléotidique avec le TYLCV-Mld [PT:2:95]) et en Espagne en 1997 (98,8% d'identité nucléotidique avec le TYLCV-Mld [ES:72:95]), peu de temps avant le début de l'épidémie de TYLCD à La Réunion. Comme ces isolats présentent moins de 98% d'identité nucléotidique avec le membre type de cette souche de TYLCV caractérisé en 1993 en Israël (TYLCV-Mld [IL:93]), nous

avons émis l'hypothèse que des isolats apparentés du TYLCV-Mld ont été disséminés dans plusieurs régions du Monde, dont La Réunion, au milieu des années 1990 (Delatte *et al.*, 2007).

Sachant que les symptômes de TYLCD sont suffisamment caractéristiques, même pour une personne non avertie, nous avons sereinement estimé que la date d'introduction de l'agent causal est très proche du signalement des premiers symptômes. L'occasion nous était donc fournie de suivre l'évolution de la variabilité génétique d'un virus émergent, le TYLCV, depuis son introduction dans un écosystème insulaire et vierge de toute maladie virale similaire. La surveillance épidémiologique du TYLCD à La Réunion a ainsi permis de collecter 111 échantillons de tomates symptomatiques dans le bassin maraîcher réunionnais de 1997 à 2004. A partir de ces échantillons, le séquençage partiel des ORFs V1-V2 et C1-C4 du TYLCV-Mld a été réalisé (Delatte *et al.*, 2007). La description d'une très faible diversité génétique moyenne des isolats de TYLCV-Mld en 1997 était cohérente avec un délai court entre l'introduction du TYLCV et le premier signalement de la maladie, et une introduction récente (**Figure 8A**). Cette très faible diversité initiale a été suivie par une augmentation quasi-linéaire de la diversité génétique moyenne du TYLCV-Mld au fil des ans. En outre, l'analyse de la taille efficace de la population de TYLCV-Mld au cours du temps suggère un phénomène d'expansion, compatible avec un effet fondateur en raison de l'introduction d'une petite population virale dans un environnement vierge (**Figure 8B**).

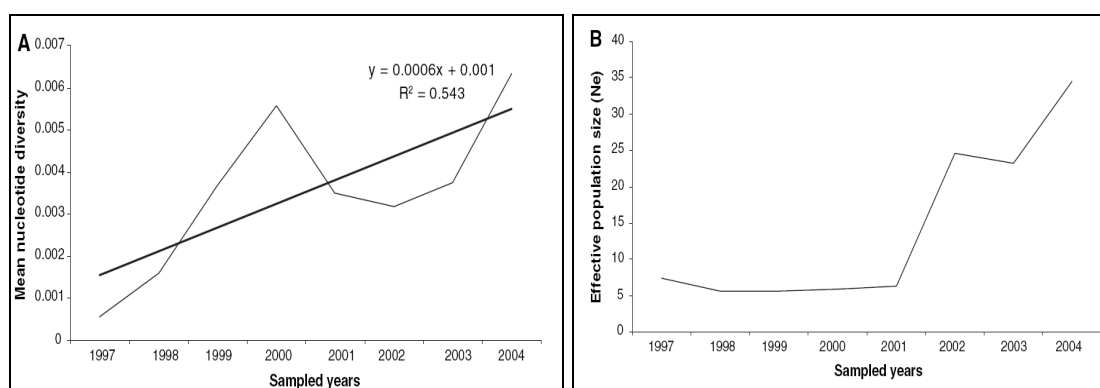


Figure 8. A Mean pairwise nucleotide diversity (Π statistics [Nei, 1987]) over years. **B** Effective population size (N_e) estimates over years for TYLCV-Mld in La Reunion. Values were obtained from 864-bp-long sequences representing 31% of the TYLCV genome and were obtained by maximum likelihood with the program Fluctuate of the software LAMARC version 2.0.2. using a mutation rate μ of 10^{-3} (D'après Delatte *et al.*, 2007).

Deuxième vague d'invasion de La Réunion par le TYLCV-IL : déplacement rapide mais incomplet de la souche résidente

En avril 2004, des symptômes particulièrement sévères de la maladie du TYLCD ont été observées à Saint-Gilles les hauts, à l'extrémité ouest du bassin maraîcher de La Réunion. La caractérisation moléculaire de l'agent causal a révélé une nouvelle introduction, celle de la souche Israël du TYLCV (TYLCV-IL), communément appelée souche « sévère » (Delatte *et al.*, 2005). L'alignement du génome complet d'un isolat réunionnais (TYLCV-IL [RE:RE4:04]) avec les séquences de TYLCV disponibles dans les banques mondiales indiqua que le virus le plus apparenté était l'isolat espagnol du TYLCV-IL[ES:Alm:Pep:99] d'Almeria, qui présente 99,5% d'identité nucléotidique. Ces liens de parentés entre les isolats réunionnais et espagnols des souches émergentes du TYLCV suggèrent que l'Espagne représente la principale voie de dissémination du TYLCV vers La Réunion. Cette hypothèse est d'autant plus vraisemblable que l'Espagne représente un des principaux exportateurs

de tomate fraîche en Europe, que les fruits asymptomatiques issus de tomates virosées sont contaminés (Just *et al.*, 2014) et que le virus peut être acquis par *B. tabaci* à partir de tomates asymptomatiques issues de plantes virosées (Delatte *et al.*, 2003).

La nouvelle introduction du TYLCV-IL dans une niche écologique insulaire occupée par le TYLCV-Mld a fourni un modèle idéal pour étudier la compétition entre deux souches émergentes d'une des plus importantes maladies virales sur les cultures dans le Monde. Le principe d'exclusion compétitive stipule que deux espèces en compétition pour les mêmes ressources limitantes ne peuvent pas coexister de façon stable (Darlington, 1972). Toutefois, selon la nature des interactions entre les individus (antagonisme, neutralité ou synergie), la co-occurrence peut conduire à l'exclusion compétitive, mais aussi à la coexistence, et même à l'émergence de nouveaux génomes recombinants (Cf. paragraphe 5.1). La poursuite du suivi épidémiologique du TYLCV de 2004 à 2010 dans le bassin maraîcher réunionnais a permis de révéler le **déplacement rapide mais incomplet de la souche résidente (TYLCV-Mld) par la souche nouvellement arrivée (TYLCV-IL ; Figure 9 ; Péréfarres *et al.*, 2014).**

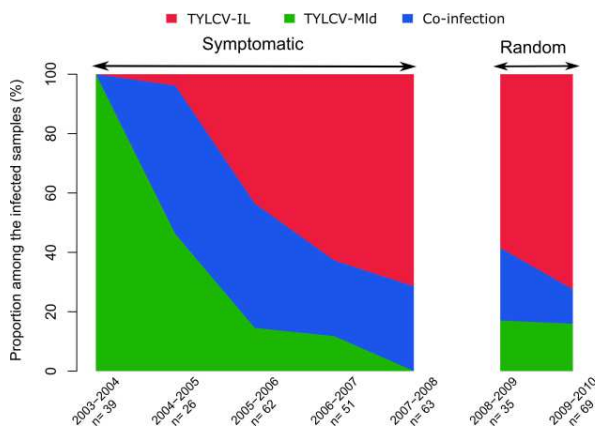


Figure 9. Dynamics of *Tomato yellow leaf curl virus* strains Mild (TYLCV-Mld) and Israel (TYLCV-IL) in Reunion Island from 2004 to 2010 (D'après Péréfarres *et al.*, 2014).

Coexistence à long terme des deux souches grâce à la coinfection et à l'assistance unilatérale

Pour comprendre les facteurs associés à ce déplacement, deux traits biologiques liés à la *fitness* (valeur adaptative) ont été mesurés en comparant ces souches : la capacité de colonisation de la plante hôte et l'efficacité de transmission par son insecte vecteur *B. tabaci*. L'évaluation de ces traits biologiques a permis de démontrer une meilleure valeur adaptative du TYLCV-IL, qui explique sa propagation rapide et sa prévalence croissante (Péréfarres *et al.*, 2014). En effet, nous avons pu montrer que le TYLCV-IL s'accumule plus vite et en plus grande quantité dans les tissus foliaire de la plante et que le taux de transmission du TYLCV-IL est 37% supérieure à celui du TYLCV-Mld. Cependant, la persistance du TYLCV-Mld en plein champ, tout particulièrement dans les infections mixtes avec le TYLCV-IL, nous a incités à poursuivre nos investigations expérimentales notamment en évaluant les effets des infections mixtes sur ces traits biologiques. Nous avons ainsi démontré que la *fitness* relative des souches virales peut changer radicalement entre les infections simples et les coinfections et que le TYLCV-Mld bénéficie fortement des infections mixtes (1) en s'accumulant plus et plus vite dans les tissus de la plante et (2) en étant transmis plus efficacement. Nos données épidémiologiques et expérimentales ont permis de paramétrer un modèle épidémiologique

qui prédit la **coexistence des deux souches sur le long terme grâce à la facilitation unilatérale entre les deux agents pathogènes**, et au maintien dans l'agroenvironnement de la souche la moins compétitive, notamment grâce aux coinfections qui vont représenter 70% des infections (**Figure 10A**). Par ailleurs, lorsqu'on s'intéresse à la quantité de maladie associée aux infections simples et mixtes, le modèle prédit une quantité plus importante de maladie associée aux souches IL et Mld, qu'en présence uniquement de la souche la plus sévère (TYLCV-IL) (**Figure 10B**).

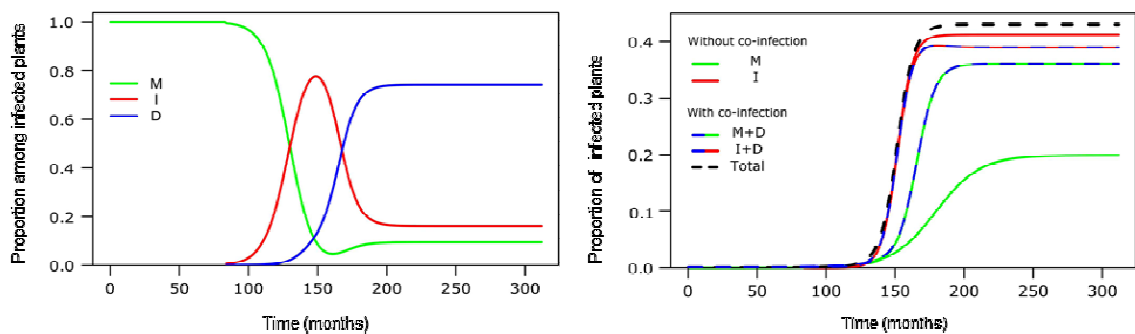


Figure 10. Modelled temporal dynamics of the proportion (A: left panel) among infected plants and (B: right panel) of infected plants by the Mild strain (M), the Israel strain (I) or both strains (D: double [mixed] infections) of TYLCV in Reunion Island. Bicolour curves represent the proportion of plants infected by each strain (single or mixed infection) and the dashed curve shows the total prevalence of TYLCV. Plain curves are provided as a benchmark and represent prevalence in single-strain epidemics (D'après Péréfarres *et al.*, 2014).

4.2.2. La chronique des CMGs en campagne aux Comores, aux Seychelles et à Madagascar

Aucun pays d'Afrique subsaharienne ne semble avoir échappé à la maladie de la mosaïque du manioc. Le transport des boutures contaminées, via le déplacement humain, est considéré comme le principal mode de dissémination de la maladie et des CMGs associés (Legg and Fauquet, 2004). Les surveillances épidémiologiques récentes semblent indiquer que certaines espèces de CMGs sont en phase d'extension de leurs aires de répartition géographique (Ndunguru et al, 2005). Dans le cadre du Programme Régional de Protection des Végétaux (PRPV) des îles du sud-ouest de l'océan Indien, nous avons organisé une surveillance épidémiologique de la CMD dans les îles de l'archipel des Comores (Grande Comore, Mohéli, Anjouan et Mayotte) et de l'archipel des Seychelles (Mahé, Praslin et La Digue), et à Madagascar, respectivement de 2003 à 2009 et de 2005 à 2011, avec la collecte de plusieurs centaines d'échantillons symptomatiques de feuilles de manioc.

Coexistence de trois espèces de type EACMV-like dans les Comores et les Seychelles

La caractérisation moléculaire de 114 séquences complètes d'ADN-A et de 41 séquences complètes d'ADN-B a permis de démontrer la **coexistence de trois espèces de type EACMV-like dans les archipels des Comores et des Seychelles : l'EACMV, l'EACMKV et l'EACMCV** (De Bruyn *et al.*, 2012 ;). Néanmoins, nous avons constaté une grande variabilité dans la composition en nombre d'espèces de CMGs et la proportion en isolats viraux identifiées entre les îles. Alors que l'EACMV a été identifié dans toutes les îles, l'EACMKV n'a pas été caractérisé aux Seychelles et à Anjouan. Alors qu'à Mayotte et à Anjouan, l'EACMV représente la grande majorité des isolats caractérisés, en

Grande Comore et à Mohéli, c'est l'EACMKV. Toutes ces différences suggèrent que la dissémination des CMGs dans ces archipels est une histoire complexe.

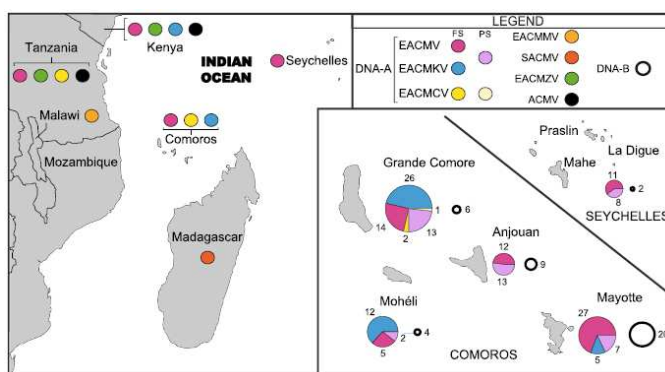


Figure 11. Repartition map of the seven African CMG's in East Africa, the Comoros archipelago and the Seychelles archipelago. The map on the left describes the general repartition of the seven DNA-A species in the area. The map at the bottom right zooms in on the archipelagos with the number and composition of samples from each island represented with pie charts. The colour code is available on the top right of the figure with FS indicating full genome sequences and PS indicating partial genome sequences (D'après De Bruyn *et al.*, 2012).

Des introductions multiples depuis l'Afrique de l'Est

Les analyses phylogéographiques réalisées à partir des séquences nucléotidiques des ADN-A, des *core* CP et des ADN-B des CMGs des Comores et des Seychelles, et la reconstruction des principales routes de migration suggèrent que la présence des CMGs dans ces îles est le résultat d'au moins quatre **événements récents et indépendants d'introduction depuis l'Afrique de l'Est** (De Bruyn *et al.*, 2012 ; **Figure 12**), reconnu comme étant le centre de diversification des EACMV-like (Ndunguru *et al.*, 2005). Pour les Seychelles, deux scénarios crédibles d'évènements de migration ont été déterminés selon le *corpus* de séquences utilisées, avec la migration des EACMV-like directement depuis l'Afrique de l'Est (ADN-B) ou par transit via Mayotte (ADN-A et *core* CP ; **Figure 12**). Parmi les îles de l'archipel des Comores, deux grandes voies de dissémination ont été déterminées, de Grande Comore vers Mohéli et de Mayotte vers Anjouan. Nos résultats suggèrent le rôle important des facteurs anthropiques dans la dissémination des CMGs avec notamment la correspondance entre les principaux axes de migration virale et les grands axes du mouvement humain et des échanges commerciaux. Les CMGs semblent avoir habilement tiré parti de la manière dont est propagé le manioc c'est-à-dire par multiplication végétative.

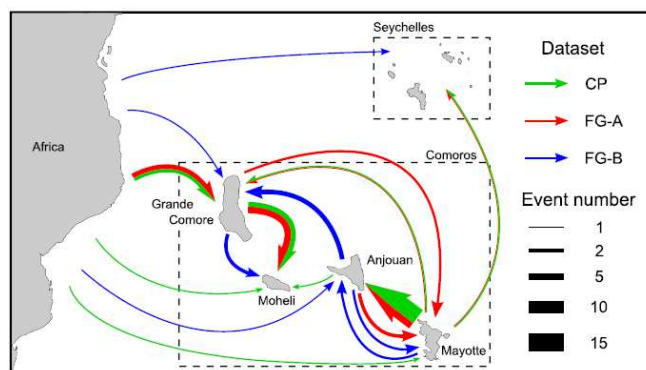


Figure 12. CMGs migrations from East Africa and between Comoros and Seychelles islands. CMGs migration events inferred using the capsid protein (CP, in green); full genome DNA-A (FG-A, in red) and full genome DNA-B (FG-B, in blue) datasets. Arrow colours represent the dataset used to infer each migration event. The

thickness of arrows is proportional to the number of independent movements inferred between islands (D'après De Bruyn *et al.*, 2012).

Six espèces de CMGs et des infections mixtes à Madagascar

Le diagnostic moléculaire des 708 échantillons de feuilles de manioc collectés à travers Madagascar, de 2005 à 2011, a permis de diagnostiquer une diversité sans précédente de six espèces de CMGs, l'ACMV, l'EACMCV, l'EACMKV, l'EACMV, le SACMV et une nouvelle espèce nommée Cassava mosaic Madagascar virus. Cette dernière a été identifiée dans un seul échantillon et décrite par Harimalala *et al.* (2012 ; cf. paragraphe 5.1.1). L'analyse de la distribution géographique des cinq principales espèces de CMGs montrent des distributions distinctes (Harimalala *et al.*, 2014; **Figure 13**). Alors que l'ACMV est plus répandu en altitude sur les hauts plateaux du centre de Madagascar, l'EACMV et l'EACMKV sont plus répandus dans les plaines et les régions côtières. Quant à l'EACMCV et le SACMV, ils sont largement distribués à travers le pays. L'utilisation d'amorces PCR spécifiques a révélé que 21% des échantillons positifs étaient coinfectés par plusieurs espèces. A notre connaissance, il s'agit de la première description *in natura* d'infections mixtes faisant intervenir quatre espèces de CMGs. Cette description témoigne de l'importante pression virale que subit le manioc à Madagascar et en Afrique en général. Par ailleurs, nous avons montré que ces infections mixtes étaient associées à des symptômes plus sévères de CMD. Les interactions synergistiques entre certaines espèces de CMGs, provoquant des symptômes plus sévères de la CMD, ont été confirmées et décryptées moléculairement (Fondong *et al.*, 2000, Patil & Fauquet, 2009, Pita *et al.*, 2001b). Nos comparaisons par paires des associations de virus ont montré que les EACMV-like en général étaient plus souvent associés à des infections mixtes alors que l'ACMV et le SACMV étaient majoritairement détectés en infection simple. Comme les infections mixtes favorisent les recombinaisons inter-spécifiques, elles sont susceptibles d'accentuer le risque d'émergence de variants sévères comme le cas du EACMV-UG en Afrique de l'Est (Cf. paragraphe 5.1.).

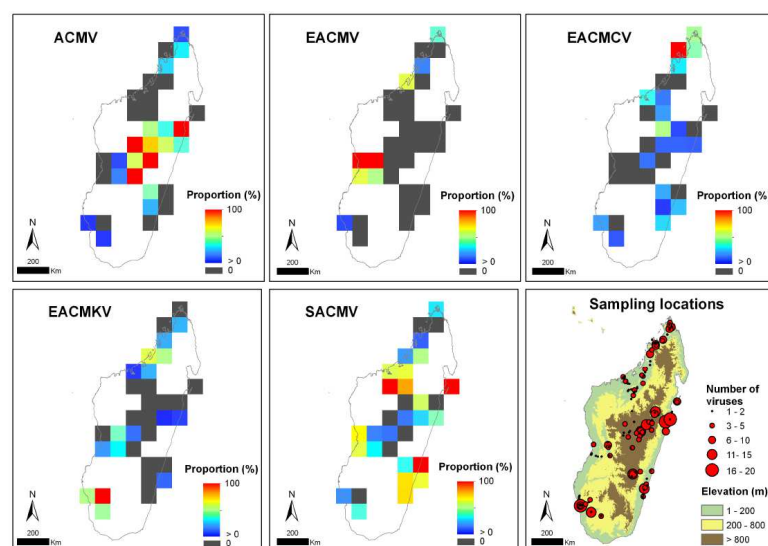


Figure 13. Geographical distribution of CMG species in Madagascar based on PCR detection. The first five maps show the geographical distribution of the five CMG species detected; ACMV, EACMV, EACMCV, EACMKV and SACMV. Each map is divided into a grid with a 100 km x 100 km resolution. Each square is coloured according to the proportion of virus species detected (%) calculated as the ratio of the number of viruses detected to the total number of viruses. The sixth map shows the sampling locations, the number of viruses detected at each location and the three altitude classes (low altitude: 0-200 m; mid-altitude: 200-800 m and high altitude: >800 m) (D'après Harimalala *et al.*, 2014).

Des histoires évolutives et des routes de dissémination distinctes

La caractérisation moléculaire de 279 séquences complètes d'ADN-A et de 117 séquences complètes d'ADN-B a permis de confirmer l'occurrence de cinq espèces de CMGs à Madagascar, préalablement décrits en Afrique (De Bruyn et al., in prép.). Tout en étant les virus les plus prévalents, le SACMV (46% des séquences) et l'ACMV (33% des séquences) s'avèrent être les virus les moins variables, avec respectivement et en moyenne 98,7% et 98, 5% d'identité nucléotidique entre eux. Au contraire, les virus les moins prévalents, l'EACMKV (15% des séquences) et l'EACMCV (4.6% des séquences) sont génétiquement les plus divers, avec respectivement et en moyenne 94,3% et 96,1% d'identité nucléotidique entre eux. En conclusion, les différences de diversité, de prévalence et de répartition géographique observées entre les cinq espèces de CMGs à Madagascar suggèrent des histoires évolutives et des routes de dissémination distinctes.

L'analyse phylogéographique et la reconstruction des principales routes de migration des CMGs à Madagascar dans le cadre d'une approche probabiliste (logiciel BEAST) suggèrent que toutes les séquences d'ACMV décrites sont issues d'un même évènement d'introduction (De Bruyn et al., in prép.). L'absence de séquences datées de SACMV du continent africain n'a pas permis de reconstruire l'historique d'introduction par cette approche. Néanmoins, le fait que toutes les séquences de SACMV malgaches forment un seul groupe monophylétique homogène suggère qu'elles sont vraisemblablement issues d'un seul et même évènement d'introduction. Au contraire, notre analyse suggère que la présence des EACMV-like à Madagascar est la conséquence de trois à quatre évènements indépendants d'introduction depuis le continent africain sans transit par les Comores. En effet, le résultat le plus intrigant de notre analyse est l'absence de relation directe entre les CMGs des Comores et de Madagascar, malgré la proximité des îles et l'existence de mouvements humains et d'échanges commerciaux.

4.2.3. La chronique du TYLCV à la conquête du Monde

Le TYLCV représente un des exemples sinon l'exemple le plus emblématique de la conquête de nouveaux territoires et des capacités d'émergence d'un phytovirus à transmission vectorielle à l'échelle mondiale. En raison de la grande diversité génétique des TYLCVs-like (complexe d'espèces impliquée dans la maladie du TYLCD) rencontrés dans le bassin méditerranéen et au Moyen-Orient, cette région fut soupçonnée d'être le centre d'origine de ces virus (Fauquet et al., 2005). En utilisant des analyses d'inférence bayésienne et de recombinaison (Cf. paragraphe 5.1.1.), nous avons reconstruit l'historique le plus vraisemblable de la diversification et du mouvement du TYLCV à travers le Monde (Lefeuvre et al., 2010 ; Figure 14). Conformément aux descriptions historiques, notre étude suggère que le TYLCV a probablement émergé sur tomate au Moyen-Orient à partir des années 30 et que la propagation mondiale du TYLCV n'a véritablement commencé dans les années 80, après l'apparition des souches IL et Mld du TYLCV. Notre étude confirme que la souche IL la plus invasive du TYLCV a émigré au moins à deux reprises dans le Nouveau Monde, une première fois à partir du bassin méditerranéen dans l'Est de l'Amérique du Nord et les Caraïbes, durant les années 90, et une deuxième fois à partir de l'Asie dans l'Ouest de l'Amérique du Nord, durant les années 2000 (Duffy and Holmes, 2007 ; Lefeuvre et al., 2010 ; **Figure 14**). Cette étude a également identifié le **Moyen-Orient et plus précisément les régions environnantes de l'Iran**

comme les centres, passés et actuels, les plus probables de la diversification du TYLCV. Néanmoins, bien que le Moyen Orient affiche la diversification génétique la plus importante du TYLCV, cette région semble épidémiologiquement isolée. En effet, la majorité des variants caractérisés au Moyen Orient n'ont pas été détecté ailleurs. En revanche, **le bassin méditerranéen a été identifié comme la principale plateforme de lancement et la source directe des variants du TYLCV circulants actuellement dans le Monde** (Lefeuvre *et al.*, 2010). Il est intéressant de noter que ce profil d'invasion mondiale est semblable au scénario décrit récemment de « tête de pont » invasif (Lombaert *et al.*, 2010). Dans ce modèle, les invasions à large échelle ne résultent pas de la dissémination de toute la diversité native des espèces envahissantes, mais plutôt de sous-populations particulièrement envahissantes qui servent de source de colons pour la conquête de nouveaux territoires.

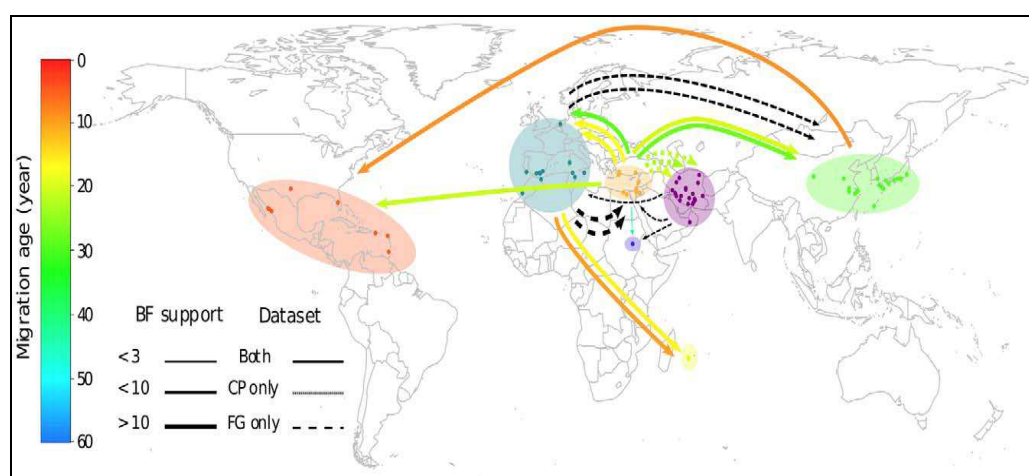


Figure 14. TYLCV migration events inferred using the coat protein (CP) and full genome (FG) datasets. Sampling locations are indicated using circles that are coloured depending on the discrete sequence groupings they were assigned to during our phylogeography analyses (indicated by transparent coloured areas). Virus movements implied by location state transitions along the branches of the CP and FG maximum clade credibility trees are indicated using arrows. Arrow colours depict the mean ages (in years) of the movements that they represent (inferred using the CP dataset and coloured according to the colour scale on the left of the figure). The thickness of arrows indicating movements between two locations indicate the over-all Bayes factor test support for epidemiological linkage between the locations. Whereas individual migration events inferred with both the CP and FG datasets are represented using solid arrows, events inferred with only the CP or the FG dataset are represented with dotted and dashed lines respectively (D'après Lefeuvre *et al.*, 2010).

Ces travaux ont été réalisés par Hélène Delatte, Pierre Lefeuvre, Frédéric Péréfarres, Mireille Harimalala et Alexandre De Bruyn, cinq étudiants que j'ai encadrés en thèse, et dans le cadre d'une collaboration avec Darren Martin et Arvind Varsani de l'Université du Cap. Les résultats ont été publiés dans six articles scientifiques.

Delatte H., A. Dalmon, D. Rist, I. Soustrade, G. Wuster, **J.-M. Lett**, R. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud (2003). Tomato yellow leaf curl virus can be acquired and transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) from tomato fruits. *Plant Disease*, 87, 1297-1300. [IF : 2,5 ; NC : 5]

Delatte H., H. Holota, F. Naze, M. Peterschmitt, B. Reynaud and **J.-M. Lett** (2005). The presence of both recombinant and the nonrecombinant strains of Tomato yellow leaf curl virus on tomato in Réunion Island. *Plant Disease*, 54, 262. [IF : 2,13 ; NC : 14]

Lefevre P., Martin D.P., Harkins G., Lemey P., Gray A.J.A., Meredith S., Lakay F., Monjane A., **Lett J.-M., Varsani A.** and J. Heydarnejad (2010). The spread of Tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world. *PLoS Pathogens*, 6(10), e1001164. [IF : 9,13 ; NC : 27]

De Bruyn A., Villemot J., **Lefevre P.,** Villar E., Hoareau M., Harimalala M., Abdoul-Karime A., Abdou-Chakour C., Reynaud B., Harkins G.W., **Varsani A., Martin D.P.** and **J.-M. Lett** (2012). East African cassava mosaic-like viruses from Africa to Indian Ocean Islands: molecular diversity, evolutionary history and geographical dissemination of a bipartite begomovirus. *BMC Evolutionary Biology*, 12:228. . [IF : 3,52 ; NC : 1]

Péréfarres F., Thébaud G., **Lefevre P.,** Chiroleu F., Rimbaud L., Hoareau, M., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2014). Frequency-dependent assistance as a way out of competitive exclusion between two strains of an emerging virus. *Proceedings of the Royal Society B*, in press. [IF : 5,60 ; NC : 0]

Harimalala M., Chiroleu F., Giraud-Carrier C., Hoareau M., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. **Lefevre P.,** and **J.-M. Lett** (2014). Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plant Pathology*, accepted. [IF : 2,13 ; NC : 0]

4.3. Introduction en Afrique de plantes hôtes exotiques sensibles aux géminivirus : émergence par saut d'hôte

Les maladies de la striure du maïs et de la canne à sucre, de l'enroulement foliaire des solanées et de la mosaïque du manioc en Afrique sont des exemples typiques d'une **émergence par saut d'hôte**, et non pas par déplacement d'un virus en dehors de son aire d'origine, mais successivement par l'introduction de plantes potentiellement hôtes dans l'aire d'origine des agents pathogènes viraux.

4.3.1. La chronique de la striure du maïs en Afrique

Depuis sa première description par Fuller en 1901 en Afrique australe, la maladie de la striure du maïs (MSD) a été largement décrite en Afrique subsaharienne, mais jamais dans l'aire d'origine du maïs, le continent américain (pour revue Kvarnheden, Lett and Peterschmitt, in press). Il en est de même pour la striure de la canne à sucre, largement décrite en Afrique mais jamais en Asie, l'aire d'origine de la canne à sucre.

Découverte d'une large diversité de souches de MSV dans les poacées indigènes

Pour des raisons économiques, les efforts d'échantillonnage de plantes présentant des symptômes de striure ont prioritairement porté sur des poacées cultivées comme le maïs. Ces échantillons ont permis de révéler l'existence d'une souche A du MSV visiblement adaptée à infecter le maïs et provoquant des symptômes sévères de MSD (Pour revue Shepherd *et al.*, 2010). Quatre autres souches nommées MSV-B à MSV-E ont été caractérisées sur maïs. Cependant, ces souches dites « *grass-infecting* » et non-adaptées au maïs provoquent de rares et très légers symptômes de la MSD, même dans des génotypes de maïs très sensibles à cette maladie. L'étude de la diversité du MSV à l'échelle des écosystèmes cultivées et également non cultivées a été entreprise dans le cadre d'un réseau de surveillance épidémiologique à l'échelle de l'Afrique subsaharienne. A partir d'échantillons symptomatiques de poacées indigènes, nous avons caractérisé moléculairement les génomes complets de 83 isolats viraux et identifié six nouvelles souches de MSV (MSV-F à MSV-K ; Varsani *et al.*, 2008 ; **Figure 15**). La description de cette diversité virale dans les poacées non

cultivées confirme l'hypothèse que le MSV est un virus indigène des poacées africaines. Lorsqu'on s'intéresse à la répartition géographique de ces souches, on s'aperçoit que la souche A ne présente pas de structuration géographique forte contrairement aux souches non-adaptées au maïs comme par exemple la souche B absente d'Afrique de l'Ouest, majoritaire en Afrique du Sud et de l'Est et exclusif à La Réunion sur les poacées non cultivées (**Figure 15**).

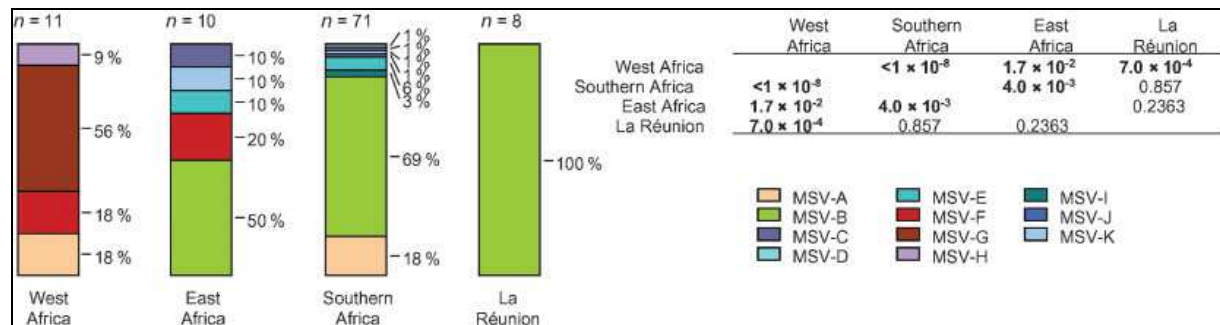


Figure 15. MSV strain demographics in different parts of Africa and La Réunion. All virus isolates represented here were sampled from uncultivated grass species. Different strains are represented by different colours, and P values indicate regions with significantly different MSV-population structures (values in bold) (D'après Varsani *et al.*, 2008).

Emergence d'une souche recombinante adaptée au maïs depuis la « soupe virale indigène »

L'analyse de la contribution de la recombinaison dans la diversification génétique des souches de MSV a permis de démontrer que le MSV-A est le résultat d'une recombinaison entre les ancêtres des isolats actuels du MSV-B et MSV-G/F. Tous les isolats de MSV-A échantillonnés jusqu'à présent portent l'empreinte de cette recombinaison, y compris les génomes les plus divers isolés à La Réunion (Monjane *et al.*, 2011 ; MSV-A6 ; **Figure 16**). Ce résultat suggère que l'événement de recombinaison a vraisemblablement eu lieu avant l'existence du plus récent ancêtre commun du groupe des MSV-A. Après son émergence initiale et sa propagation ultérieure dans l'ensemble du continent, le MSV-A a évolué pour former cinq sous-types distincts (MSV-A1, MSV-A2 , MSV-A3, MSV-A4 et MSV-A6), qui présentent aujourd'hui une répartition géographique bien distincte en Afrique subsaharienne (Monjane *et al.*, 2011 ; **Figure 16**). Bien qu'au cours du siècle dernier, le mouvement en Afrique de certains sous-types de MSV-A semble avoir subi moins de contraintes que celui d'autres souches de MSV non adaptées au maïs ou d'espèces de mastrévirus apparentées, il apparait également que les différents sous-types de MSV-A ne présentent pas tous la même mobilité. Par exemple, alors que le sous-type MSV-A1 est largement réparti en Afrique subsaharienne, les sous-types MSV-A2, -A3, -A4 et -A6 ont été décrits uniquement et respectivement en Afrique de l'Ouest, Afrique de l'Est, Afrique australe et à l'île de La Réunion.

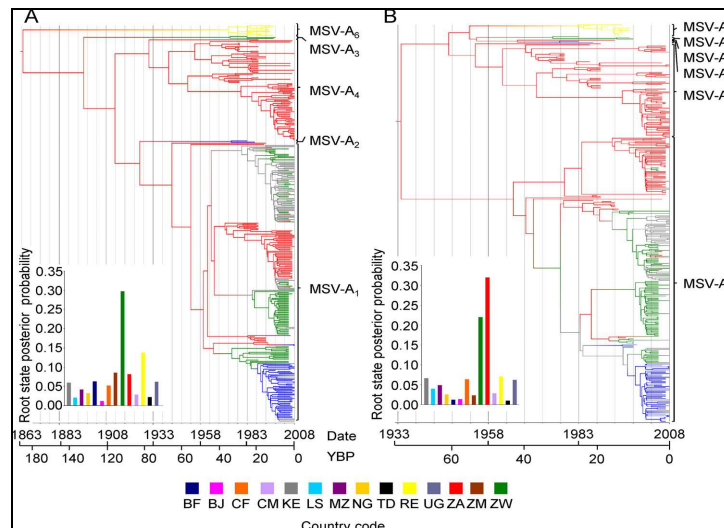


Figure 16. MSV-A maximum clade credibility phylogenies generated under the discrete phylogeographic diffusion model. The MSV-A FG (A) and MPCP (B) phylogenies are color coded so that the different branch colors depict the most probable location states of their descendant nodes. These location states have been defined as geographical regions encompassing the following countries: West Africa (Benin [BJ], Cameroon [CM], Burkina Faso [BF], and Nigeria [NG]) in blue, Central Africa (Central African Republic [CF] and ZM) in gray, East Africa (Kenya [KE], Uganda [UG], and northern MZ) in green, and southern Africa (ZA, ZW, LS, and southern MZ) in red. The posterior probability distributions for the root state locations (i.e., indicating the most probable site of origin of the most recent common ancestor of all the sequences represented) are shown in the bottom left corner of each phylogeny, using the colors above the two-letter country codes (TD, Chad; RE, La Réunion). The vertical lines indicate the distribution of subtypes MSV-A1, -A2, -A3, -A4, and -A6. YBP, years before present (D'après Monjane *et al.*, 2011).

Dissémination transcontinentale de la souche adaptée à la plante cultivée exotique

L'analyse phylogéographique réalisée sur un corpus de 353 séquences complètes d'isolats subsahariens du MSV-A, nous a permis de reconstruire l'historique le plus vraisemblable des mouvements de migration du MSV-A au cours des 150 dernières années en Afrique subsaharienne (Monjane *et al.*, 2011 ; **Figure 17**). En plus d'identifier l'Afrique Australe comme le centre d'origine du MSV-A, nous avons également estimé que cette souche a vraisemblablement émergé dans les années 1863, ce que confirment les données historiques sur la description des premiers symptômes de MSD. Dans un deuxième temps, la souche adaptée au maïs semble avoir subi une migration transcontinentale vers le Nord puis l'Est, à une vitesse moyenne de déplacement de 32,5 kms par an au cours du siècle.

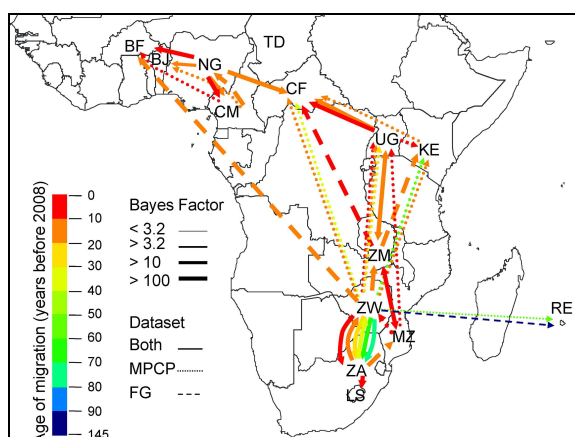


Figure 17. MSV-A migration routes were inferred using BEAST analyses and the full genome (FG) and MPCP data sets. Migration events are indicated using arrows. The arrow colors depict the mean ages (in years) of the individual movement events that they represent. Whereas movement events inferred with both the FG and MPCP data sets are represented using solid lines, events inferred with only the MPCP or FG data set are represented with dotted and dashed lines, respectively. (D'après Monjane *et al.*, 2011).

Emergence d'une nouvelle espèce virale suite à un changement d'hôte

Dans les années 90, le CIRAD a mené un ambitieux programme d'amélioration variétale du maïs pour la résistance aux trois principales viroses tropicales, le MSV, le *Maize stripe virus* (MStV, Tenuivirus) et le *Maize mosaic virus* (MMV, Nucleorhabdovirus). Ce programme a abouti à la sélection de variétés populations multirésistantes dont CIRAD412 qui a été largement vulgarisée à La Réunion, dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien et en Afrique. Durant ces dix dernières années, la vulgarisation et l'utilisation de cette lignée CIRAD412 à La Réunion a conduit à une diminution rapide de la prévalence de la MSD jusqu'à une quasi absence de description de symptômes de cette maladie sur les cultures de maïs. En 2009, deux échantillons de feuilles de maïs issus des variétés populations multirésistantes en reconduction et présentant des symptômes de MSD ont été collectés respectivement sur les stations du Cirad de Ligne Paradis et de Bassin Martin. La caractérisation moléculaire de l'agent causal aboutit à la description de deux isolats viraux d'une nouvelle espèce de mastrévirus nommée Maize streak Reunion virus (MSRV ; Pande et al., 2012). En effet, le MSRV présente au mieux 57% d'identité nucléotidique avec le génome complet des autres virus africains de la striure, sachant que le seuil de distinction taxonomique des mastrévirus est fixé à 75% (ICTV, 2012). De plus, le MSRV est génétiquement très éloignée du MSV (<54% d'identité nucléotidique), seule espèce virale incriminée jusqu'à présent dans la MSD et ceci malgré un échantillonnage important réalisé à large échelle en Afrique subsaharienne. La vulgarisation d'une variété de maïs résistante au MSV mais *a priori* sensible au MSRV semble avoir joué un rôle important voir clef dans l'émergence du MSRV. L'importance de ce facteur écologique dans l'émergence du MSRV reste néanmoins à être démontrée expérimentalement par des tests biologiques.

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration avec Darren Martin et Arvind Varsani de l'Université du Cap. Les résultats ont été publiés dans trois articles scientifiques.

Varsani A., D. Shepherd, A. Monjane, B. Owor, J. Erdmann, E. Rybicki, M. Peterschmitt, R. Briddon, P. Markham, S. Oluwafemi, O. Windram, **P. Lefeuvre, J.-M. Lett, D. P. Martin** (2008). Recombination, decreased host specificity and increased mobility may have driven the emergence of Maize streak virus as an agricultural pathogen. *Journal of General Virology*, 89, 2063-74.

Monjane A., G. W. Harkins, **Martin D.P.**, P. Lemey, **P. Lefeuvre**, D. Shepherd, S. Oluwafemi, M. Simuyandi, I. Zinga, E. Komba, D. Lakoutene, N. Mandakombo, J. Mboukoulida, S. Semballa, A. Tagne, F. Tiendrébéogo, J. Erdmann, T. van Antwerpen, B. Owor, B. Flett, M. Ramusi, O. Windram, R. Syed, **J.-M. Lett**, R. Briddon; P. Markham, E. Rybicki, **A. Varsani** (2011). Reconstructing the history of Maize streak virus strain-A dispersal to reveal diversification hotspots and its origin in southern Africa. *Journal of Virology*, 85, 9623-9636.

Pande D., Kraberger S., **Lefeuvre P., Lett J.-M.**, Shepherd D., **Varsani A.** and **D. Martin** (2012). A novel maize infecting mastrevirus from La Réunion Island. *Archives of Virology*, 157:1617-1621.

4.3.2. La chronique de la maladie de l'enroulement foliaire des solanées dans les îles SWIO

Les solanées en général représentent de très bons hôtes pour les géminivirus. La tomate en particulier s'est révélée être un biomarqueur remarquable de la diversité des bégomovirus présents et « cachés » dans les écosystèmes, avec notamment la description de plus de 57 espèces de bégomovirus de la tomate dans le Monde et autant d'espèces non assignées à caractériser (Abhary *et al.*, 2007). Originaire du Nouveau Monde, la tomate a été introduite en Europe au milieu du XVIème siècle, avant d'être distribuée en Asie et en Afrique. Malgré l'existence d'une importante diversité de bégomovirus bipartites du Nouveau Monde décrite sur tomate, les bégomovirus bipartites ou monopartites de l'Ancien Monde décrits sur tomate forment un groupe phylogénétique distinct, et représentent également des exemples **du passage des virus des écosystèmes naturels vers les écosystèmes cultivés.**

Une diversité « extraordinaire » de bégomovirus indigènes

Suite à la première épidémie de TYLCV en 1997 à la Réunion (Peterschmitt *et al.*, 1999) et à la description par Reckhaus (1993) de symptômes de TYLCD et de mouches blanches sur les cultures de tomate dans plusieurs régions de Madagascar, nous avons mis en place une veille sanitaire dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien (SWIO). Des campagnes de prélèvements de feuilles de tomate présentant des symptômes de la maladie du TYLCD-ToLCD, ont été réalisées à Madagascar en 2001-2005, aux Comores en 2003-2005 et aux Seychelles en 2004 dans le cadre du Programme Régional de Protection des Végétaux (PRPV). L'ensemble de ces échantillons a permis de caractériser une « extraordinaire » diversité de bégomovirus impliqués dans cette maladie au niveau régional (Delatte *et al.*, JGV 2005), et d'étudier les relations phylogénétiques avec les bégomovirus africains (Lefeuvre *et al.*, JGV 2007). Le clonage et le séquençage de 18 génomes viraux complets a permis d'identifier 12 nouvelles espèces de bégomovirus indigènes des îles du SWIO (Delatte *et al.*, 2002; Lett *et al.*, 2004; Delatte *et al.*, 2004; Lefeuvre *et al.*, 2007a, 2007b). La reconstruction phylogénétique réalisée à partir de ces nouvelles séquences virales ainsi que celles disponibles dans les bases de données mondiales (GenBank-EMBL-DDJP) montre que ces virus appartiennent au groupe des bégomovirus monopartites et bipartites africains et méditerranéens et qu'ils présentent une origine polyphylétique (Lefeuvre *et al.*, 2007a), contrairement à l'hypothèse émise préalablement d'une origine monophylétique (Delatte *et al.*, 2004). Néanmoins, la majorité des bégomovirus indigènes décrits dans les îles SWIO sont associées au sein d'un même groupe phylogénétique au sein duquel se trouvent également des virus bipartites. Ce regroupement de virus monopartites et bipartites suggère qu'ils sont génétiquement apparentés et qu'ils présentent une origine commune, avec soit la perte de l'ADN B par les virus monopartites, soit l'acquisition de l'ADN B par les virus bipartites. La dernière hypothèse semble être la plus parcimonieuse si on se base sur un scénario évolutif faisant intervenir une molécule d'ADN-A ancestrale, présentant une constitution minimale capable de se répliquer, qui se serait ensuite dupliquée pour générer une molécule d'ADN-B avec de nouvelles fonctions de mouvement (Rojas *et al.*, 2005). L'importante divergence entre les séquences virales

indigènes d'Afrique et identifiées à partir de plantes hôtes cultivées et originaires du Nouveau Monde suggère l'existence d'une diversité virale encore insoupçonnée au sein des plantes indigènes réservoirs. Nos résultats soulignent la nécessité de réaliser un échantillonnage de grande envergure sur les plantes hôtes primaires, dans le but d'appréhender toute la diversité des bégomovirus des îles SWIO et d'Afrique, et d'estimer le risque potentiel de voir émerger sur les cultures un nouveau conquérant aussi insatiable que le TYLCV.

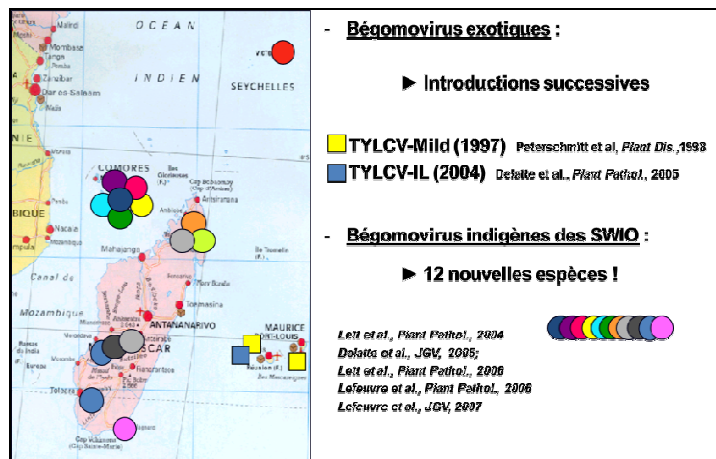


Figure 18. Répartition géographique des bégomovirus exotiques et indigènes caractérisés à partir de plantes maraîchères originaires du Nouveau Monde présentant des symptômes typiques de maladies à bégomovirus (enroulement foliaire, nanisme et jaunissement) dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien.

Ces travaux ont été réalisés par Hélène Delatte, Pierre Lefeuvre et Alexandre De Bruyn, trois étudiants que j'ai encadrés en thèse, et Magalie Thierry dans le cadre d'un Volontariat Civil à l'Aide Technique (VCAT). Les résultats ont été publiés dans trois articles scientifiques et quatre publications « sentinelles » avec la description de nouveaux agents viraux (*New Disease Report*).

Delatte H., B. Reynaud, J.-M. Lett, M. Peterschmitt, M. Granier, J. Ravololonandrianina and R.W. Goldbach (2002). First molecular identification of a begomovirus in Madagascar. *Plant Disease*, 86, 1404.

Lett J.-M., H. Delatte, F. Naze, B. Reynaud, A.L. Abdoul-Karime and M. Peterschmitt, (2004). A New Tomato leaf curl virus from Mayotte. *Plant Disease*, 88, 681.

Delatte, H., F. Naze, M. Granier, R. Goldbach, B. Reynaud, M. Peterschmitt, and J.-M. Lett (2005). South West Indian Ocean islands tomato begomovirus populations represent a new major monopartite begomovirus group. *Journal of General Virology*, 86, 1533-1542.

Lett J.-M., H. Delatte, F. Naze, P. Lefeuvre, Y. Mohamed-Ali and B. Reynaud (2006). First report of Tobacco leaf curl Zimbabwe virus affecting tobacco in the Comoros Archipelago. *Plant Pathology*, 55, 567.

Lefeuvre P., H. Delatte, F. Naze, W. Dogley, B. Reynaud and Lett J.-M., (2007). A new tomato leaf curl virus from the Seychelles Archipelago. *Plant Pathology*, 56, 342.

Lefeuvre P., D.P. Martin, M. Hoareau, F. Naze, M. Thierry, H. Delatte, A. Varsani, N. Becker, B. Reynaud and Lett J.-M. (2007). Begomovirus "melting pot" in the South West Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology*, 88, 3458-3468.

Thierry M., Lefeuvre P., Hoareau M., Péréfarres F., Delatte, H., Reynaud, B., Martin D.P. and J.-M. Lett (2012). Differential disease phenotype of a complex of begomoviruses associated with tobacco leaf curl disease in Comoros. *Archives of Virology*, 157:545-550.

4.3.3. La chronique de la maladie de la mosaïque du manioc en Afrique

La CMD a été décrite pour la première fois en Afrique de l'Est à la fin du siècle dernier (Warburg, 1894). Depuis, elle a été détectée dans la majorité des pays d'Afrique subsaharienne et dans le sous-continent Indien mais pas en Amérique du Sud, l'aire d'origine du manioc (Pour revue Legg and Fauquet, 2004).

Un complexe de *bégomovirus bipartites africains*

L'épidémiologie moléculaire des CMGs impliquées dans la CMD, au Burkina Faso (Tiendrébéogo *et al.*, 2009, 2012), aux Comores et Seychelles (De Bruyn *et al.*, 2012), à Madagascar (Harimalala *et al.*, 2012, 2014) et en Centrafrique (Zinga *et al.*, 2012, 2013), a été réalisée dans le cadre de quatre thèses. Elle a permis d'identifier un complexe de neuf espèces de CMGs impliqué dans cette maladie et la description de deux nouvelles espèces de CMGs au Burkina Faso (Tiendrébéogo *et al.*, 2012) et à Madagascar (Harimalala *et al.*, 2012), respectivement l'African cassava mosaic Burkina virus (ACMBFV) et le Cassava mosaic Madagascar virus (CMMGV) (**Figure 19**).

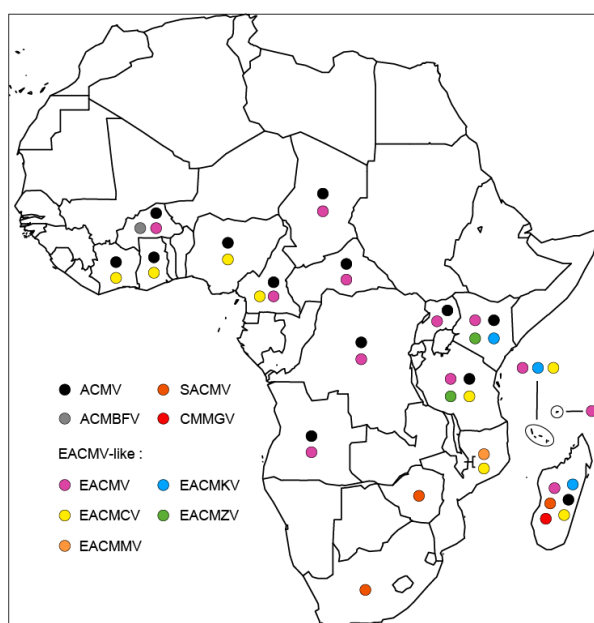


Figure 19. Répartition géographique des CMGs en Afrique en se basant sur nos travaux et les séquences complètes disponibles sur GenBank/EMBL/DDBJ (Mars 2014) (D'après De Bruyn *et al.*, soumis).

La reconstruction phylogénétique réalisée à partir de ces nouvelles séquences virales ainsi que celles disponibles dans les bases de données mondiales (GenBank-EMBL-DDJP) a permis de confirmer que ces virus appartiennent au groupe des bégomovirus monopartites et bipartites africains. L'absence de cette lignée africaine de bégomovirus bipartites aux Amériques, aire d'origine du manioc, suggère que l'émergence des CMGs responsable de la CMD est également le fruit d'un saut d'espèce de plante hôte suite à l'introduction du manioc en Afrique depuis l'Amérique du Sud (Fauquet et Fargette, 1990). D'abord introduit en Afrique de l'Ouest par les portugais vers le milieu du XVIe siècle, le manioc a été introduit en Afrique de l'Est à partir du XVIIIe siècle via les îles SWIO, qui ont représenté la tête de pont de l'introduction du manioc en Afrique de l'Est. Les informations disponibles sur la gamme d'hôtes naturels des CMGs indiquent

qu'ils sont en grande partie inféodés au manioc cultivé (*Manihot esculenta*), et à quelques-uns de leurs parents sauvages tels que *Manihot glaziovii* (Fauquet et Fargette, 1990). Même si quelques euphorbiacées et fabacées ont récemment été décrites comme de potentiels hôtes alternatifs (Monde *et al.*, 2010; Ogbe *et al.*, 2006), les hôtes primaires des ancêtres des CMGs actuels restent largement inconnus. La description de séquences ancestrales des CMGs actuels dans les plantes primaires et indigènes d'Afrique permettrait d'argumenter l'hypothèse d'une ancestralité africaine.

Ces travaux ont été réalisés principalement par Fidèle Tiendrébéogo, Innocent Zinga, Mireille Harimalala, trois étudiants africains que j'ai encadrés en thèse en cotutelles. Les résultats ont été publiés dans quatre articles scientifiques et deux publications « sentinelles » (*New Disease Report*).

Tiendrébéogo F., Lefeuvre P., Hoareau M., Traoré V.S.E., Barro N., Reynaud B., Traoré A.S., Konaté G., Traoré O. and **J.-M. Lett** (2009). Occurrence of East African cassava mosaic-Uganda (EACMV-UG) in Burkina-Faso. *Plant Pathology*, 58, 783.

Tiendrébéogo F., Lefeuvre P., Hoareau M., **Harimalala M.**, Villemot J., Traoré V., Konaté G., Traoré A., Barro N., Reynaud B., Traoré O. & **J.-M. Lett** (2012). Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Virology Journal*, 9:67.

Harimalala M., Lefeuvre P., De Bruyn A., **Tiendrébéogo F.**, Hoareau M., Villemot J., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. and **J.-M. Lett** (2012). A novel cassava-infecting begomovirus from Madagascar: Cassava mosaic Madagascar virus. *Archives of Virology*, 157:2027–2030.

Zinga I., **Harimalala M.**, De Bruyn A., Hoareau M., Mandakombo N., Reynaud, B. and Lefeuvre P., and **J.-M. Lett** (2012). East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) and African cassava mosaic virus (ACMV) reported for the first time in Central African Republic and Chad. *New Disease Reports*, 26, 17.

Zinga I., Chiroleu F., Legg J., Lefeuvre P., Kosh Komba E., Semballa S., Yandia S.P., Mandakombo N., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2013). Epidemiological assessment of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of viral mixed infection and poor health of plant cuttings. *Crop Protection*, 44, 6-12.

Harimalala M., Chiroleu F., Giraud-Carrier C., Hoareau M., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. Lefeuvre P., and **J.-M. Lett** (2014). Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plant Pathology*, accepted.

5. Origine de la diversité et associations complexes : plasticité génomique

*“I’ve learned to think like a virus: no neurons,
a lot of sex and a lot of errors “*

John J. Holland

La capacité du virus à s'adapter à un hôte est conditionnée par sa variabilité génétique, qui est liée à la fois à son taux de mutation et de recombinaison. La mutation est le mécanisme évolutif par lequel du polymorphisme génétique est créé à des sites individuels du génome, tandis que la recombinaison est le mécanisme par lequel le polymorphisme est redistribué entre individus en formant de nouvelles combinaisons à partir de la variabilité préexistante. Malgré l'importance de ces deux mécanismes fondamentaux dans l'évolution du vivant en général et dans le contexte plus réduit de l'évolution virale, leurs conséquences au niveau de la *fitness* sont encore très mal comprises (Betancourt and Bollback, 2006; Otto and Gerstein, 2006). La plupart des recherches *in natura* en évolution virale ont porté sur l'évolution de virus à ARN, qui représentent les plus importants agents pathogènes viraux humains. Au contraire chez les plantes, la plupart des émergences virales récentes sont liées aux virus à ADN simple brin (ADNsb) du genre *Begomovirus* transmis par aleurode (Seal *et al.*, 2006). Malgré l'utilisation des polymérases cellulaires de leur hôte, ayant un niveau de fidélité élevé, ces virus présentent un taux élevé de mutation et de recombinaison et affichent à l'échelle de la population ou de l'hôte des niveaux de diversité comparables à ceux de certains virus à ARN (Duffy and Holmes, 2008 ; Ge *et al.*, 2007; Isnard *et al.*, 1998). Le potentiel évolutif important de ces virus à ADNsb en font un modèle idéal pour la description et la compréhension de l'émergence virale et des mécanismes moléculaires sous-jacents.

5.1. Recombinaison et pseudo-recombinaison : moteur de l'évolution des gémivirus

En virologie, deux processus de réarrangement génomique différents peuvent être distingués : la recombinaison et la pseudo-recombinaison. La recombinaison implique l'échange de matériel génétique au sein d'un composant génomique. La pseudo-recombinaison a lieu chez les virus multipartites et implique l'échange de composants génomiques intacts entre virus, aboutissant à la formation de génomes présentant de nouvelles combinaisons de composants génomiques. Néanmoins, que ce soit par recombinaison ou pseudo-recombinaison, le réarrangement de l'information génétique doit générer des génomes fonctionnels et raisonnablement adaptés.

L'obtention d'un nombre croissant de séquences génomiques complètes et l'apparition de méthodes efficaces de détection de la recombinaison ont permis de montrer que le processus de

recombinaison jouait un rôle primordial dans la genèse de la diversité des géminivirus et leur émergence (Padidam *et al.*, 1999). Nous pouvons citer en exemple la souche A du MSV (Cf. paragraphe 4.3.1), la souche israélienne du TYLCV (TYLCV-IL, cf. paragraphe 4.2.1) et la souche ougandaise de l'EACMV (EACMV-UG, cf. paragraphe 4.3.3) présentées dans le chapitre précédent. Au cours de nos recherches et en parallèle de la description de la diversité virale, nous sommes intéressés à évaluer l'importance de la recombinaison dans la genèse de cette diversité, et à identifier les mécanismes et les facteurs sélectifs associés.

Evolution des bégomovirus monopartites des îles SWIO : recombinaison

L'importance des phénomènes de recombinaison dans la diversité génétique actuelle des bégomovirus a été étudiée premièrement sur le corpus de séquences nucléotidiques des bégomovirus monopartites indigènes et décrites dans les îles SWIO (Delatte *et al.*, 2005 ; Lefeuvre *et al.*, 2007a, 2007b). Ces analyses ont permis de montrer l'existence d'un **grand nombre d'évènements de recombinaison interspécifique**, qui sont à l'origine de la diversité génétique de ces populations virales actuelles présentes dans les différentes îles SWIO (**Figure 20**). La détection de ce grand nombre d'évènements de recombinaison, notamment sur le corpus de séquences nucléotidiques des bégomovirus monopartites indigènes pour lesquels le parent minoritaire (contributeur minoritaire) est une espèce virale uniquement décrite en Afrique continentale, argumente l'hypothèse préalablement émise d'une origine commune des bégomovirus monopartites africains (Cf. paragraphe 4.3.2.). D'autre part, la détection d'un certain nombre d'évènements de recombinaison pour lesquels le parent minoritaire n'est actuellement pas connu argumente l'hypothèse préalablement émise d'une importante diversité cachée dans les écosystèmes naturels.

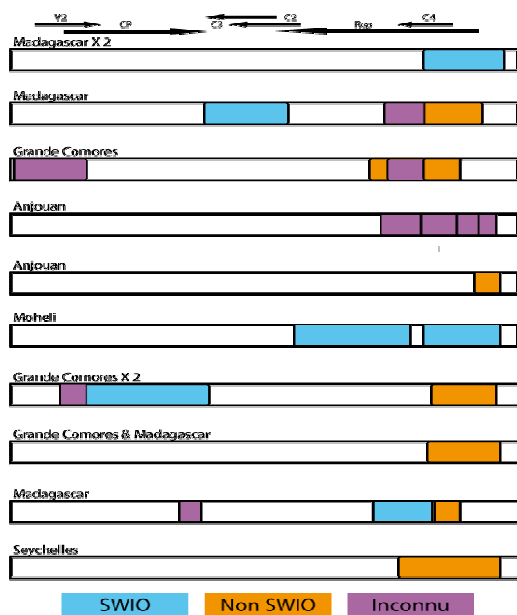


Figure 20. Diagramme représentant les régions recombinantes détectées dans les séquences virales des bégomovirus monopartites indigènes des îles du sud-ouest de l'océan Indien (SWIO). L'origine de la région recombinante est précisée par un code couleur.

Evolution des bégomovirus bipartites des îles SWIO et d'Afrique : recombinaison et pseudo-recombinaison

L'importance des phénomènes de recombinaison dans la diversification des CMGs des îles SWIO et d'Afrique a également été étudiée sur un corpus de 626 et 336 séquences complètes respectivement d'ADN-A et d'ADN-B, en grande partie caractérisé dans le cadre de nos travaux (425 DNA-A ; 242 DNA-B ; De Bruyn *et al.*, 2012 ; De Bruyn *et al.*, en prép.). Comme pour les bégomovirus monopartites des îles SWIO, les 45 évènements de recombinaison détectés concernent des évènements de recombinaison interspécifiques impliquant en grande majorité des séquences de types CMGs (**Figure 21**). Nos résultats confirment à la fois la structure mosaïque des CMGs et la forte aptitude à la recombinaison des espèces virales appartenant au groupe des EACMV-like. La fréquence élevée des coinfections associant les EACMV-like à Madagascar (Harimalala *et al.*, accepté) et aux Comores (De Bruyn *et al.*, 2012) est compatible avec le nombre important de séquences recombinantes de type EACMV-like caractérisé. Inversement, la fréquence plus élevée d'infections simples associant l'ACMV est compatible avec l'absence d'évènements de recombinaison détectée dans les séquences d'ACMV des îles SWIO (Harimalala *et al.*, 2014). Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse préalablement émise que certains CMGs comme l'ACMV sont beaucoup plus réfractaires à la recombinaison (Patil and Fauquet, 2009). Néanmoins, ce manque de ferveur de l'ACMV pour la recombinaison ne concerne pas son statut de « donneur ». En effet, nous avons enregistré la signature de plusieurs évènements de recombinaison dans les séquences de SACMV et d'EACMCV des îles SWIO (Boites noires, **Figure 21**), pour lesquels le parent minoritaire est l'ACMV. L'exemple le plus emblématique reste la souche sévère ougandaise, qui est le fruit de la recombinaison entre l'ACMV et l'EACMV, avec l'échange de la portion centrale de l'ORF AV1 de l'EACMV par celle de l'ACMV (Zhou *et al.*, 1997).

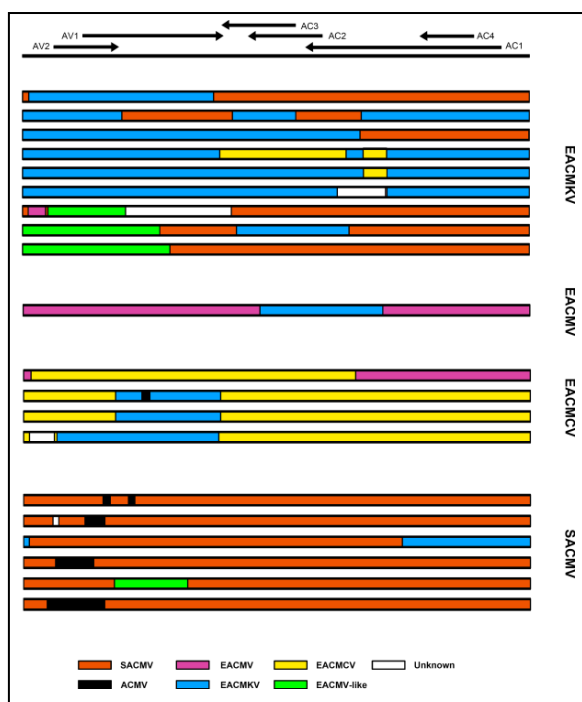


Figure 21. Diagramme représentant les régions recombinantes détectées dans les séquences virales des bégomovirus bipartites (CMGs) des îles du sud-ouest de l'océan Indien (SWIO) responsable de la maladie de la mosaïque du manioc. L'origine de la région recombinante est précisée par un code couleur.

L'absence de congruences parfaites entre les phylogénies et les routes de migration des ADN-A et des ADN-B (**Figure 12** ; cf. paragraphe 4.2.2), nous ont amené à évaluer l'importance du réassortiment entre les composants (pseudo-recombinaison) dans l'évolution des CMGs (De Bruyn *et al.*, 2012 ; De Bruyn *et al.*, en prép.). A partir d'un jeu de données de séquences nucléotidiques associant les ADN-A et les ADN-B, nous avons premièrement évalué le nombre d'évènements de réassortiments entre les composants A et B par une analyse de recombinaison. Deuxièmement, nous avons inféré les états ancestraux et les changements des associations ADN-A et ADN-B par une analyse BEAST. Les deux analyses ont mis en évidence de nombreux événements de réassortiments, notamment entre l'EACMV, l'EACMKV et le SACMV qui semblent presque librement échanger leurs composants génomiques. Nos résultats confirment que le réassortiment se produit préférentiellement entre des virus étroitement apparentés, et qu'il dépend probablement de l'aptitude de la Rep, codée par l'ADN-A, à trans-répliquer les séquences de l'ADN-B avec lequel il est associé (Ndunguru *et al.*, 2005 ; Rojas *et al.*, 2005). Cette hypothèse est notamment argumentée par l'absence de réassortiments détectés impliquant l'ADN-B de l'EACMCV et de l'ACMV qui sont génétiquement distincts des autres composants d'ADN-B.

ACMBFV-CMMGV : les exceptions à la règle

La caractérisation de la diversité des espèces de CMGs impliqués dans la CMD en Afrique nous a amené à décrire deux nouvelles espèces l'*African cassava mosaic Burkina Faso virus* (ACMBFV ; Tiendrébéogo *et al.*, 2012) et le *Cassava mosaic Madagascar virus* (CMMGV ; Harimalala *et al.*, 2012). Le remplacement phylogénétique et les analyses de recombinaison ont permis de démontrer que l'ACMBFV et le CMMGV sont de nature recombinante entre des bégomovirus monopartites et bipartites. En effet, malgré le postulat du caractère réfractaire de l'ACMV aux événements de recombinaison, nous avons démontré que l'ADN-A de l'ACMBFV est issu d'une recombinaison interspécifique entre un parent majoritaire (contributeur majoritaire) apparenté aux isolats ouest africains de l'ACMV et des parents minoritaires apparentés aux isolats du *Tomato leaf curl Cameroon virus* et *Cotton leaf curl Gezira virus* (bégomovirus monopartites) (Tiendrébéogo *et al.*, 2012 ; **Figure 22**). Concernant le CMMGV, à l'exception des deux régions recombinantes de l'ADN-A qui sont plus apparentées aux CMGs, nous avons déterminé que la région majoritaire non-recombinante de l'ADN-A (séquence réceptrice) est génétiquement plus apparentée aux bégomovirus monopartites caractérisés sur tomate dans les îles SWIO (Lefeuvre *et al.*, 2007). Au contraire, malgré une région recombinante provenant d'un virus non encore identifié, le composant d'ADN-B possède un génome majoritairement apparenté aux CMGs décrits en Afrique de l'Est. L'ensemble de nos résultats démontrent l'existence d'une importante diversité des CMGs en Afrique et d'une relation phylogénétique étroite entre les bégomovirus monopartites et bipartites africains, et confirment plus largement que la recombinaison est une source de diversité génétique essentielle pour les bégomovirus.

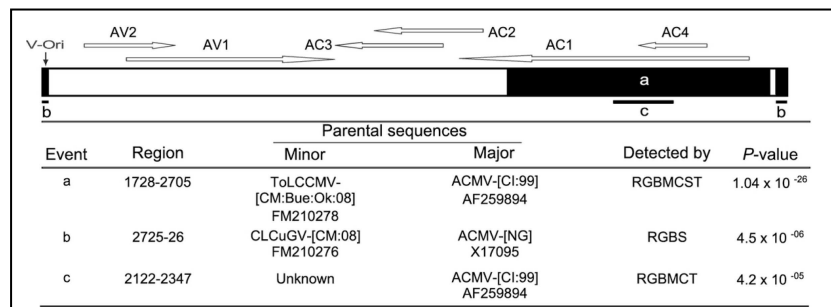


Figure 22. Recombinant regions (a, b and c) detected within the isolates of African cassava mosaic Burkina Faso virus using RDP3. The genome at the top of the figure corresponds to the schematic representation of sequence below. Region coordinates are nucleotide positions of detected recombination breakpoints. Wherever, possible parental sequences are identified. "Major" and "Minor" parents are sequences that were used, along with the indicated recombinant sequence to identify recombination. Whereas for each identified event the minor parent is apparently the contributor of the sequence within the indicated region, the major parent is the apparent contributor of the rest of the sequence. Recombinant regions and parental viruses were identified using the RDP (R), GENECONV (G), BOOTSCAN (B), MAXIMUM CHI SQUARE (M), CHIMAERA (C), SISTER SCAN (S) and 3Seq (T) methods (D'après Tiendrébéogo *et al.*, 2012).

5.2. Recombinaison et évolution des géminivirus : forces et contraintes

La recombinaison permet la création de nouveaux arrangements génomiques et comme nous l'avons montré préalablement joue un rôle fondamental dans la diversification des géminivirus et plus largement des virus à ADN simple brin circulaire (Lefeuvre *et al.*, 2009). Malgré des gammes d'hôtes très variés (animaux pour les *Circoviridae*, les *Anellovirus* et la *Parvoviridae*, plantes pour les *Geminiviridae* et les *Nanoviridae* et bactéries pour les *Microviridae*), les virus à ADN sb circulaire présentent certaines spécificités communes dont la conservation des profils de recombinaison qui suggèrent l'existence de contraintes sur le réseau d'interactions génomiques.

Distribution non-aléatoire de la recombinaison

Au cours de nos travaux, nous avons à l'aide de tests statistiques démontré la **distribution non-aléatoire des évènements de recombinaison** sur le génome des bégomovirus monopartites et bipartites avec la présence de points chauds (**hot spot**) et de points froids (**cold spot**) de recombinaison (Lefeuvre *et al.*, 2007a, 2007b; **Figure 23**). Les *cold spots* de recombinaison se retrouvent principalement au sein des gènes des protéines de capsid (CP/V1) et de mouvement (MP/V1), et des protéines activatrices de la transcription (TrAP/C2) et de la réplication (REn/C3), alors que les *hot spots* de recombinaison sont localisés au niveau des zones non codantes (IR) ainsi que des ORFs C1 et C4 de sens complémentaire. Nos travaux associés à ceux d'Owor *et al.* (2007) ont permis d'avancer des hypothèses plausibles sur l'origine mécanistique des évènements de recombinaison. Ainsi, l'existence de conflits entre les complexes de réplication de l'ADN viral et les complexes de transcription des ORFs complémentaires (Jeske *et al.*, 2001), qui évoluent en sens contraire, pourrait entraîner la formation de réplicons partiels, qui interviendraient ensuite dans la réplication dépendante de la recombinaison (RDR). En présence de virus d'origines différentes, il y aurait alors création de recombinants. Ces prédispositions biochimiques liées à la réplication et à la transcription du virus entraîneraient une augmentation de la recombinaison des ORFs de sens complémentaire et expliquerait en partie la très grande capacité de recombinaison des bégomovirus. L'association de ces raisons mécanistiques et de la sélection opérant sur les recombinants créés expliquerait les profils de recombinaison observés.

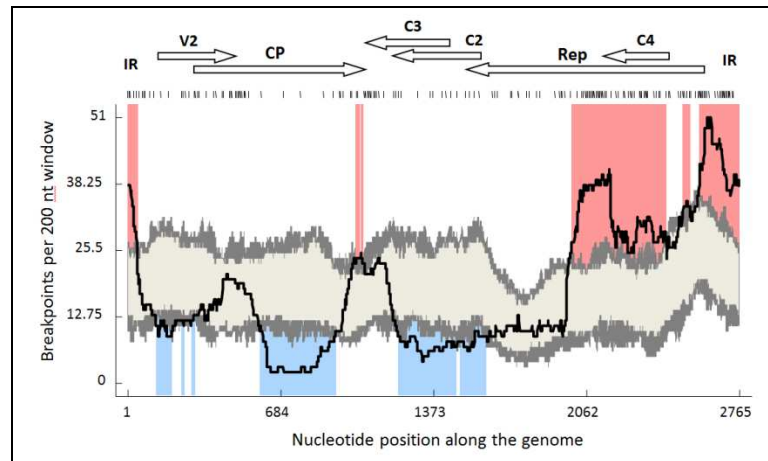


Figure 23. The distribution of recombination breakpoints within SWIO, African and Mediterranean begomovirus full genome sequences. All detectable breakpoint positions are indicated by small vertical lines at the top of the graph. A 200 nucleotide window was moved along the alignment one nucleotide at a time and the number of breakpoints detected within the window region was counted and plotted (solid line). The upper and lower broken lines, respectively, indicate 99 and 95% confidence thresholds for globally significant breakpoint clusters. Light and dark grey areas, respectively, indicate local 99 and 95% breakpoint clustering thresholds taking into account local regional differences in sequence diversity that influence the ability of different methods to detect recombination breakpoints. Red areas indicate recombination hot-spots, while blue areas represent recombination cold-spots. Horizontal arrows represent virion strand ORFs (V1 and V2) and complementary strand ORFs (C1, C2, C3 and C4). IR: intergenic region (D'après Lefeuvre *et al.*, 2007a).

Maintien de la fonctionnalité des protéines

Afin d'identifier les facteurs responsables de la sélection des recombinants créés mécaniquement, nous avons exploré dans un premier temps l'importance de la fonctionnalité des protéines recombinantes et du maintien des réseaux d'interactions formés entre les acides aminés au sein des protéines. En se basant sur (1) la distribution des événements de recombinaison détectés chez les bégomovirus et (2) les structures tridimensionnelles disponibles pour la protéine de capsid et la partie terminale de la protéine Rep (Bottcher *et al.*, 2004; Campos-Olivas *et al.*, 2002), nous avons pu estimer le niveau de perturbation des protéines recombinantes en utilisant une méthode de mesure appelée SCHEMA (Voigt *et al.*, 2002). La comparaison des niveaux de perturbations des protéines CP et Rep issues des événements de recombinaison réels et simulés au hasard a permis de démontrer que **les événements de recombinaison observés sont moins perturbants que ceux simulés** (Lefeuvre *et al.*, 2007c). Par conséquent, la sélection purificatrice, qui semble agir sur les recombinants naturels qui ne présentent pas des structures protéiques appropriées, représente un déterminant important du profil de recombinants naturels chez les bégomovirus. En considérant que les virus parentaux présentent un niveau d'adaptation élevé et que la plupart des virus recombinants sont défectifs et moins adaptés que leurs parents (Martin *et al.*, 2005 ; Escriu *et al.*, 2007), on peut raisonnablement penser que la grande majorité des virus recombinants à l'origine d'émergence ne représente qu'une faible portion de l'ensemble des recombinants créés. Par conséquent, les génomes recombinants qui hébergent des réarrangements délétères sont rapidement éliminés par la sélection naturelle. Ces résultats suggèrent que **la sélection**

purificatrice est un des facteurs majeurs façonnant la distribution des recombinaisons au sein des populations naturelles de bégomovirus.

Maintien du réseau d'interactions intra-génomiques

L'étude expérimentale de la capacité d'évolution et d'adaptation des populations virales, issues de la rencontre entre un virus exotique invasif et émergent (TYLCV-Mld) et d'un virus indigène de la région SWIO (*Tomato leaf curl Comoros virus*, ToLCKMV), a permis de démontrer que la recombinaison offre l'opportunité à ces bégomovirus d'accéder et de coloniser un très large espace de diversité, et de générer de nouveaux variants potentiellement émergents (Martin *et al.*, 2011). En effet, à partir de plantes coinfectées en conditions contrôlées, nous avons clonés et séquencés 362 génomes viraux complets et identifiés 29% de recombinants (106 génomes recombinants). Cependant, ce pourcentage de génomes recombinants s'est avéré très variable selon la plante étudiée (3 à 88% des génomes viraux séquencés). Par ailleurs, lorsqu'on analyse les profils de recombinaison, on s'aperçoit que les 373 événements uniques de recombinaison détectés sont très variables en position et en taille (**Figure 24**). L'ensemble de ces résultats argumente **l'importance des déterminants stochastiques dans la proportion et le profil des descendants recombinants**.

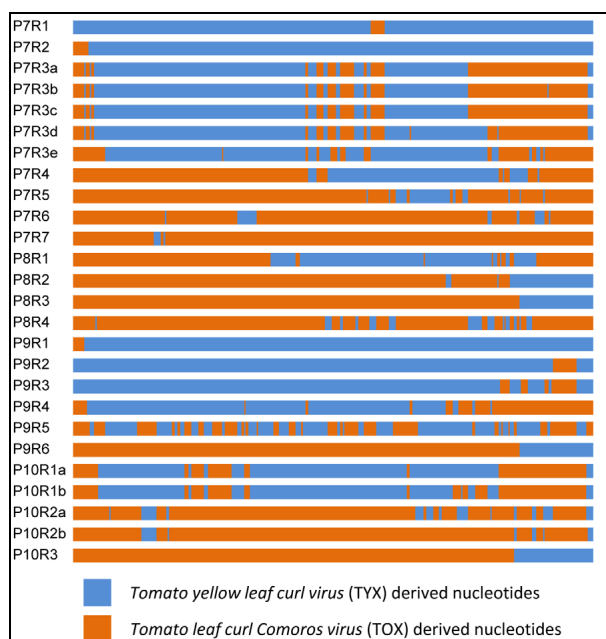


Figure 24. Unique recombinant genome mosaics arising during mixed Tomato yellow leaf curl virus (TYX) and Tomato leaf curl Comoros virus (TOX) infections. Each line represents one mosaic genome linearized at the virion strand origin of replication. The virus names to the left are in the form P[plant number]R[recombinant number] (D'après Martin *et al.*, 2011).

L'analyse des points de recombinaison a permis de confirmer l'existence (1) de *hot* et *cold* spots de recombinaison, similaires à ceux préalablement décrits sur les séquences virales issus d'échantillons prélevés dans la nature, et (2) de contraintes adaptatives dans l'évolution des populations virales par recombinaison, avec notamment le maintien des réseaux d'interactions intra-génomiques entre les différentes régions des génomes et des protéines codées (Martin *et al.*, 2011). Si la sélection naturelle favorise vraisemblablement la survie des recombinants présentant la plus grande capacité d'adaptation à l'hôte, elle semble également favoriser la survie des génomes recombinants dans lesquels les différentes catégories d'interactions intra-génomiques sont préservées. Cela concerne à la fois la préservation des interactions entre (1) les acides aminés

au sein des protéines (structures secondaires), (2) les nucléotidiques au sein des structures secondaires génomiques, (3) les protéines et (4) les protéines et l'ADN. L'intensité des empreintes laissées par la sélection naturelle sur les profils de recombinaison observés a notamment permis de retracer les principales associations intra-génomiques connues et décrites dans la littérature, et d'identifier des associations potentielles dont les interactions sont actuellement inconnues (**Figure 25**).

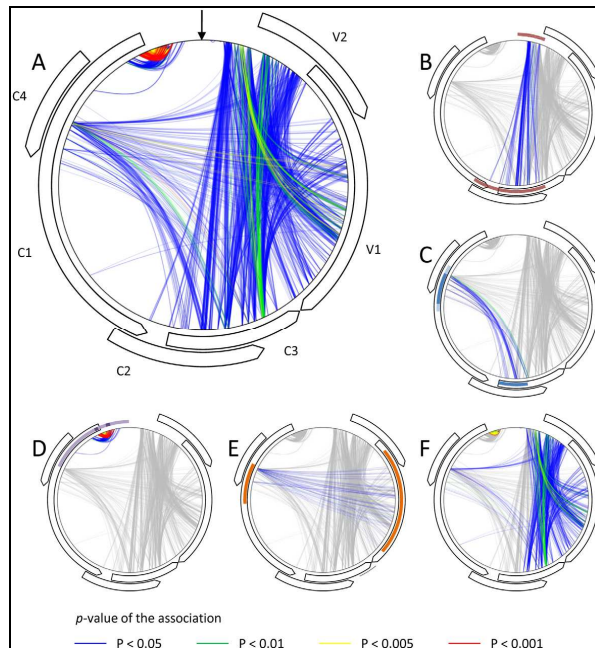


Figure 25. Schematic representation of nucleotide associations implied by non-random patterns of recombination that occur during TYLCV-Mld and ToLCKMV co-infections. Curved arrows indicate the positions of open reading frames (ORFs) and the vertical black arrow indicates the position of the origin of virion strand replication. The indicated p-values are for a pair permutation-based association tests **(A)** All of the detected associations. **(B)** Associations potentially caused by the known interaction between the C3 gene product (TrAP) and the V1 and V2 gene promoter (Lacatus and Sunter, 2009). **(C)** The known interaction between the C1 gene product (REP) and the C3 gene product (REn; Castillo et al., 2003). **(D)** The known interaction between the C1 gene product and the C1 proximal portion of the intergenic region (Arguello-Astorga et al., 2001). **(E)** The known interaction between the V1 gene product (CP) and the C1 gene product (Malik et al., 2005). **(F)** Associations potentially caused by as yet unknown interactions between the V1 and V2 genes/gene products, the V1 gene/gene product and the intergenic region, and between the C3 and V2 genes/gene products (D'après Martin et al., 2011).

Ces travaux ont été réalisés au cours de la thèse et du post-doctorat de Pierre Lefeuvre et dans le cadre d'une collaboration avec Darren Martin de l'Université du Cap. Les résultats ont été publiés dans quatre articles scientifiques.

Lefeuvre P., Martin D.P., Hoareau M., Naze F., Thierry M., Delatte H., Varsani A., Becker N., Reynaud B. and **J.-M. Lett** (2007). Begomovirus "melting pot" in the South West Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology*, 88, 3458-3468.

Lefeuvre P., Lett J.-M., Reynaud B. and **D.P. Martin** (2007). Avoidance of protein fold disruption in natural virus recombinants. *PLoS Pathogens*, 3(11): e181.

Lefeuvre P., Lett J.-M., Varsani A. and **D.P. Martin** (2009). Widely conserved recombination amongst single stranded DNA viruses. *Journal of Virology*, 83, 2697-2707.

Martin D.P., Lefeuvre P., Hoareau M., Semegnia J.Y., Dijoux B., Vincent C., Reynaud B., Varsani A., and **J.-M. Lett** (2011). Complex recombination patterns arising during geminivirus coinfections both preserve and demarcate biologically important intra-genome interaction networks. *PLoS Pathogens*, 7(9): e1002203.

5.3. Associations complexes de malfaiteurs

Comme nous l'avons montré préalablement, une épidémie peut être liée à la coexistence et l'assistance de plusieurs souches d'une même espèce (cas du TYLCV-IL et -Mld, conf. paragraphe 4.2.1). Dans le cadre de nos travaux sur l'épidémiologie moléculaire de nouvelles maladies émergentes à bégomovirus, nous avons également démontré l'importance des associations complexes d'espèces virales et d'ADN satellites dans la symptomatologie d'une maladie.

5.3.1. Synergie inter-espèces et symptômes sévères

La synergie virale est l'interaction positive entre des virus qui coinfectent une plante, celle-ci pouvant entraîner des symptômes plus sévères. Dans les années 90, une forme sévère de la CMD s'est rapidement propagée en Ouganda et dans les pays avoisinants (Pour revue Legg and Fauquet, 2004). Les premières observations des symptômes sévères de CMD ont été suivies par l'identification d'une souche sévère nommée souche ougandaise de l'EACMV (EACMV-UG). Le suivi du front épidémique en Ouganda a cependant permis de montrer que la sévérité de la maladie était associée à l'infection mixte entre deux virus l'EACMV-UG et l'ACMV (Harrison *et al.*, 1997 ; Pita *et al.*, 2001). La synergie entre l'ACMV et l'EACMV-UG a pu être démontrée expérimentalement. La production de symptômes plus sévères en infections mixtes est liée à l'effet conjugué de deux supresseurs du *post transcriptional gene silencing* (PTGS ; Vanitharani *et al.*, 2004). Le même phénomène de synergie aboutissant à des symptômes sévères de la CMD a été reporté au Cameroun quand les plantes sont coinoculées par l'ACMV et l'EACMCV (Fondong *et al.*, 2000).

La chronique de l'association entre l'ACMV et l'EACMV-UG

La surveillance épidémiologique de la CMD au Burkina Faso et en Centrafrique, nous a permis de décrire pour la première fois l'EACMV-UG, en association avec l'ACMV, en Centrafrique (Zinga *et al.*, 2012) et au Burkina Faso (Tiendrébéogo *et al.*, 2009). Facteur clef de l'épidémie de CMD sévère qui affecte l'Afrique de l'Est, la présence de l'EACMV-UG et de l'ACMV en sympatrie en Afrique Centrale et de l'Ouest représente une menace considérable pour cette culture vivrière de base. Par ailleurs, nous avons également démontré que 58% des échantillons de manioc de Centrafrique, prélevés en plein champ, présentent des infections mixtes (ACMV + EACMV-UG) et expriment des symptômes de CMD significativement plus sévères que les infections simples (Zinga *et al.*, 2013 ; **Figure 26**).

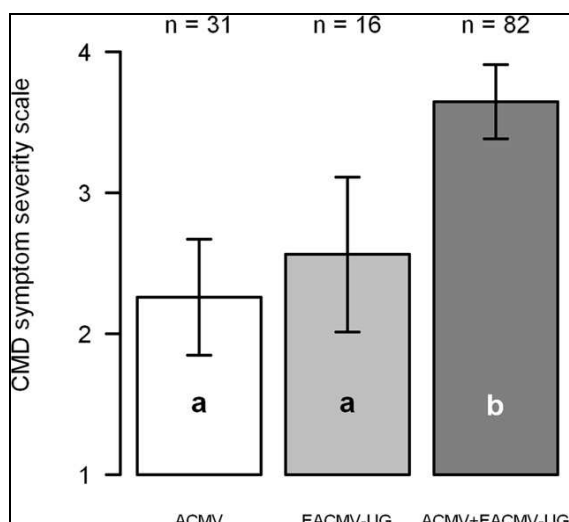


Figure 26. Average cassava mosaic disease (CMD) symptom severity score, and confidence intervals, depending on single or mixed infection by African cassava mosaic virus (ACMV) and the East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG). CMD severity score is based on a symptom severity scale of 1 (asymptomatic) to 5 (very severe). For each severity score, means followed by the same letters are not significantly different (non-parametric pairwise Wilcoxon rank sum test at $P < 0.05$) (D'après Zinga *et al.*, 2013).

La chronique d'associations multiples de CMGs à Madagascar

La surveillance épidémiologique de la CMD à Madagascar a non seulement permis de décrire une diversité sans précédente d'espèces de CMGs présente dans une même région d'Afrique (Conf. paragraphe 4.3.3), mais également que 21% des échantillons de manioc collectés étaient coinfectés par deux (15%), trois (5%), voire quatre (1%) espèces de CMGs (Harimalala *et al.*, accepté). Bien que ces espèces virales puissent être trouvées en infection simple ou mixte, la prévalence de chaque virus en infection mixte semble être différente. En effet, les EACMV-*like* sont plus fréquemment trouvés en infection mixte en comparaison de l'ACMV et du SACMV. Par ailleurs, nos analyses ont démontré que les plantes coinfectées présentaient des symptômes de CMD significativement plus sévères (**Figure 27**), suggérant l'existence d'un mécanisme de synergie virale comme celui impliqué dans la pandémie sévère de CMD en Afrique continentale (Fondong *et al.*, 2000; Pita *et al.*, 2001a; Patil and Fauquet, 2010).

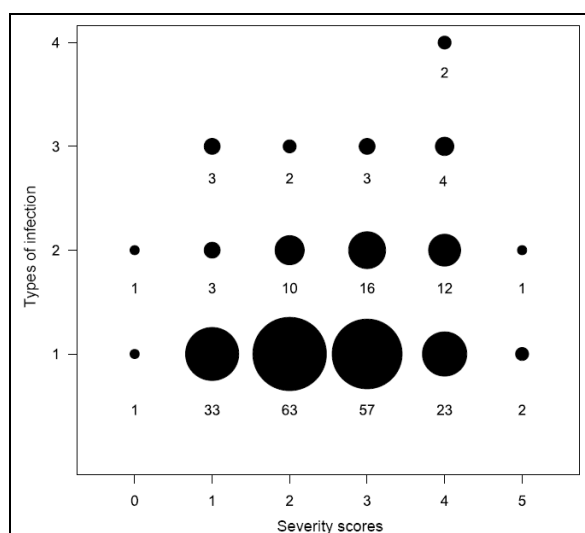


Figure 27. Relation between the cassava mosaic disease symptom severity scores and the types of infection. The x-axis shows the different severity scores ranging from no symptoms (0) to very severe symptoms (5). The y-axis shows the different types of infection with single (1), double (2), triple (3) and quadruple (4) infections. The size of each circle is proportional to the number of plants (number given under each circle) included in each class.

5.3.2. Associations des bégomovirus avec des ADN satellites

Certains bégomovirus notamment les monopartites de l'Ancien Monde sont associés à des ADN circulaires satellites ayant une taille d'environ 1300 pb (Briddon *et al.*, 2004 ; **Figure 28**). Ces ADN satellites participent à l'infection virale, sans être pour autant nécessaires à celle-ci. Deux classes principales d'ADN satellites ont été identifiées : les alphasatellites (ADN-1) et les betasatellites (ADN- β) (Briddon and Stanley, 2006 ; Fiallo-Olivé *et al.*, 2012). Les alphasatellites possèdent un ORF codant pour une protéine associée à la réplication (Rep), leur permettant de se répliquer de façon autonome. Cependant, ils dépendent du virus assistant pour l'encapsidation et le mouvement (Briddon and Stanley, 2006; Nawaz-ul-Rehman *et al.*, 2009). Leur génome comporte également une région riche en adénine (A) et une tige boucle similaire à celle des nanovirus (5' TAGTATTAC 3'). Les alphasatellites ne semblent pas jouer un rôle majeur dans l'induction des symptômes ou la pathogénicité du bégomovirus assistant, et sa fonction reste incertaine (Briddon and Stanley, 2006). Les betasatellites possèdent un ORF C1 codant pour la protéine β C1 qui est impliquée dans le développement et l'intensité des symptômes (Briddon and Stanley, 2006; Saunders *et al.*, 2004), une région riche en A, une région commune et une tige boucle (5' TAA/GTATTAC 3'). Les betasatellites dépendent du virus assistant à la fois pour l'encapsidation, le mouvement et la réplication. Contrairement aux alphasatellites, il a été démontré qu'ils jouent un rôle direct dans le développement et la gravité des symptômes, en facilitant à la fois sa propre accumulation dans la plante et celle du bégomovirus assistant (Briddon *et al.*, 2001; Saunders *et al.*, 2000). Les betasatellites sont déterminants dans la pathogénicité du virus assistant, en intervenant dans la suppression du mécanisme de défense de la plante hôte (Mansoor *et al.*, 2003).

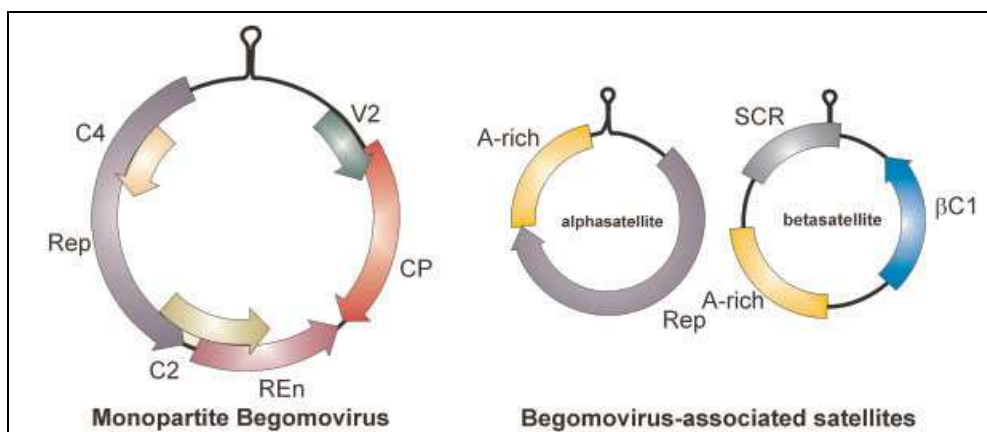


Figure 28. Genome organization of monopartite begomoviruses and their associated satellites, alphasatellite and betasatellite. The betasatellites have a single gene (β C1) in the complementary-sense and a region of sequence highly conserved between all betasatellites [known as the satellite conserved region (SCR)] and a region of sequence rich in adenine (A-rich). The alphasatellites have a single large protein (Rep) and contain an A-rich sequence. For each component the conserved hairpin structure, containing the nonanucleotide sequence TAATATTAC (TAGTATTAC for most alphasatellites) within the loop structure, is shown at position zero (D'après Sattar *et al.*, 2013).

La chronique d'une association nouvelle entre un CMG et un alphasatellite

La caractérisation moléculaire du Cassava mosaic Madagascar alphasatellite (CMMGA) a permis de faire une première description de l'association naturelle entre un alphasatellite et un CMG (EACMKV) sur le manioc (Harimalala *et al.*, 2013). Le CMMGA présente seulement 80% d'identité nucléotidique avec la séquence la plus apparentée, le Cotton leaf curl Gezira alphasatellite (CLCuGA - [SD:SH7:96]). En considérant le seuil de démarcation d'une nouvelle espèce en vigueur pour les alphasatellites de 83% d'identité nucléotidique (Mubin *et al.*, 2009), le CMMGA peut être considéré comme une nouvelle espèce d'alphasatellite. De manière importante, la présence du CMMGA a été détectée par PCR dans plusieurs échantillons de manioc provenant de localités distinctes situées dans le Nord de Madagascar. Au-delà de démontrer que ce satellite n'est pas cryptique, cela nous amène à nous interroger sur son implication dans la pathogénicité des CMGs et l'expression des symptômes de la CMD. En effet, deux autres types de molécules satellites (satDNA-II et satDNA-III) isolées à partir de manioc affecté par la CMD ont été décrites en Afrique de l'Est (De León *et al.*, 2013). Les données actuelles suggèrent que ces ADN satellites en association avec l'ACMV, accentuent les symptômes de la CMD et permettent de surmonter la résistance d'un cultivar local de manioc d'Afrique de l'Est (TME3). Malgré l'importance de l'effet synergique des CMGs sur la sévérité de la CMD en infection mixte, démontrée au champ (cf. paragraphe 5.1.3) et expérimentalement (Vanitharani *et al.*, 2004), les données actuelles suggèrent néanmoins que d'autres facteurs tels que les ADN satellites pourraient être impliqués dans les épidémies de CMD en Afrique et l'expression de symptômes sévères.

La chronique d'une association complexe entre un bégomovirus monopartite et des ADN satellites

Suite à la recrudescence de symptômes sévères et l'augmentation de l'impact de la maladie de l'enroulement foliaire du gombo ou *okra leaf curl disease* (OLCD) au Burkina Faso, nous avons premièrement évalué l'impact de l'OLCD sur les variétés locales et commerciales de gombo, en plein champ et en conditions naturelles d'infestations. Ces travaux ont principalement permis de souligner le caractère émergent de l'OLCD au Burkina Faso, la forte prévalence (69 à 73%) de la maladie dans les principales zones de cultures et l'importance des pertes de rendement (26-55%) notamment sur les variétés locales (Tiendrébéogo *et al.*, 2010a). Deuxièmement, dans le cadre d'une surveillance épidémiologique, les principaux foyers de l'OLCD ont été associés à la présence du Cotton leaf curl Gezira virus (CLCuGeV), un bégomovirus monopartite inféodé aux malvacées, et un complexe d'ADN satellites (Tiendrébéogo *et al.*, 2010b). Comme son nom l'indique, le CLCuGeV a été décrit pour la première fois à partir d'un plant de coton collecté dans la région de Gezira au Soudan et affecté par la maladie de l'enroulement foliaire du coton ou *cotton leaf curl disease* (CLCD) (Idris and Brown, 2002). Même si le CLCuGeV a été associé à la maladie de l'OLCD dans plusieurs pays africains de la bordure sahélienne, le Soudan, le Mali, le Niger et à présent le Burkina Faso, il n'a été décrit sur coton qu'au Soudan. De façon intéressante, bien que les séquences virales du CLCuGeV isolées à partir de différentes malvacées hôtes présentent plus de 99% d'identité nucléotidique, les isolats du gombo ne sont pas transmissibles au coton et vice versa (Idris and Brown, 2002). Bien que cette spécificité d'hôte puisse être déterminée par le nombre relativement faible de sites polymorphes de leur ADN génomique, on soupçonne également

qu'elle puisse être liée à la présence et à la composition d'ADN satellites, qui se sont révélés être associés à tous les isolats de CLCuGeV décrits en Afrique. Ce fut notamment le cas pour l'épidémie sévère de CLCD qui a émergé dans la région de Multan au Pakistan dans les années 90s et qui s'est rapidement propagée pour affecter plus d'un millions d'hectares de coton (pour revue Sattar et al., 2013). Cette épidémie sévère a été associée jusqu'à présent à un complexe de sept espèces différentes de bégomovirus inféodées aux malvacées et un betasatellite spécifique, le Cotton leaf curl Multan betasatellite (CLCuMB), qui a directement été impliqué dans sa capacité à éliciter l'expression des symptômes et à supprimer les mécanismes naturels de défense de la plante (suppression du PTGS). Mêmes si la plupart des données actuelles suggèrent que ces molécules d'ADN satellites sont impliquées dans la pathogénicité de leur bégomovirus assistant, leurs implications dans l'étiologie de l'OLCD en Afrique restent à être élucidées. En conclusion, les données actuelles soulignent l'interaction complexe qui peut exister entre des molécules d'ADN d'origines différentes, qui peut aboutir à une « entité multipartite » aux propriétés pathogéniques nouvelles.

Ces travaux ont été réalisés par Mireille Harimalala, Fidèle Tiendrébéogo et Innocent Zinga, trois étudiants africains que j'ai encadrés en thèse en cotutelles. Les résultats ont été publiés dans cinq articles scientifiques et deux publications « sentinelles » (*New Disease Report*).

Tiendrébéogoo F., P. Lefeuvre P., M. Hoareau, V.S.E. Traoré, N. Barro, B. Reynaud, A.S. Traoré, G. Konaté, O. Traoré and **J.-M. Lett** (2009). Occurrence of East African cassava mosaic-Uganda (EACMV-UG) in Burkina-Faso. *Plant Pathology*, 58, 783.

Tiendrébéogoo F., Traoré V.S., **J.-M. Lett**, N. Barro, G. Konaté, A.S. Traoré, O. Traoré (2010a). Impact of okra leaf curl disease on morphology and yield of okra. *Crop Protection*, 29, 712-716.

Tiendrébéogoo F., P. Lefeuvre P., M. Hoareau, J. Villemot, G. Konaté, A.S. Traoré, N. Barro, V.S.E. Traoré, B. Reynaud, O. Traoré and **J.-M. Lett** (2010b). Molecular diversity of Cotton leaf curl Gezira virus isolates and their satellite associated with okra leaf curl disease in Burkina Faso. *Virology Journal*, 7, 48.

Zinga I., Harimalala M., De Bruyn A., Hoareau M., Mandakombo N., Reynaud, B. and Lefeuvre P., **J.-M. Lett** (2012). East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) and African cassava mosaic virus (ACMV) reported for the first time in Central African Republic and Chad. *New Disease Reports*, 26, 17.

Harimalala M., De Bruyn A., Hoareau M., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. Lefeuvre P., and **J.-M. Lett** (2013). Molecular characterization of a new alphasatellite associated with a cassava mosaic geminivirus in Madagascar. *Archives of Virology*, 157, 2027-2030.

Zinga I., Chiroleu F., Legg J., Lefeuvre P., Kosh Komba E., Semballa S., Yandia S.P., Mandakombo N., Reynaud, B. and **J.-M. Lett** (2013). Epidemiological assessment of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of viral mixed infection and poor health of plant cuttings. *Crop Protection*, 44, 6-12.

Harimalala M., Chiroleu F., Giraud-Carrier C., Hoareau M., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B. Lefeuvre P., and **J.-M. Lett**. Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plant Pathology*, accepted.

6. PERSPECTIVES

“ La Nature est évolution, renouvellement et changement “

Jacques Tassin, La grande invasion

« et non La grande vadrouille »

Adossé aux données de la littérature, l'ensemble de nos investigations suggère que le principal facteur associé à l'émergence des maladies à gémiovirus à transmission vectorielle est l'**invasion biologique**. Cela concerne notamment le changement de populations d'insectes vecteurs plus abondants et présentant une gamme élargie de plantes hôtes, capable d'extraire des espèces virales de leur niche originelle (écosystèmes naturels), et l'introduction d'agents pathogènes ou de plantes hôtes exotiques, sensibles aux gémiovirus, dans de nouveaux environnements. Par ailleurs, les invasions biologiques semblent également jouer un rôle fondamental dans l'évolution de ces virus, en favorisant la co-occurrence virale dans les écosystèmes cultivées et naturels, le chevauchement des aires de répartition des virus et l'occurrence de coinfections. Les coinfections vont favoriser la création de nouveaux arrangements génomiques par recombinaison et pseudo-recombinaison, et jouer un rôle fondamental dans la capacité d'évolution et d'adaptation des gémiovirus. Elles vont également favoriser les associations entre plusieurs espèces virales et de composants satellites, aboutissant à des associations complexes d'entité multipartite responsables de nouvelles maladies émergentes. L'existence de ces associations complexes souligne à la fois la plasticité génomique des gémiovirus et la complexité de certaines étiologies.

L'interaction virus – vecteur : le talon d'Achille potentiel des bégomovirus

Comme nous l'avons mentionné préalablement, un des facteurs clefs de l'émergence des bégomovirus comme des agents pathogènes dévastateurs des cultures est l'apparition et la dissémination de populations invasives et abondantes de *B. tabaci*. Ce fut le cas notamment pour l'épidémie sévère de CMD en Afrique de l'Est (Legg and Fauquet, 2004), et la pandémie de TYLCD à l'échelle mondiale avec la dissémination du TYLCV et des populations invasives de *B. tabaci* communément appelées biotypes B et Q (Péréfarres *et al.*, 2012).

Les moyens de lutte utilisés actuellement contre les maladies à virus transmises par insectes vecteurs, sont basés sur la lutte contre le vecteur (traitements insecticides, protections physiques ou lutte biologique) ou l'agent pathogène (variétés résistantes au virus *sensus stricto*). La sélection de variétés résistantes est souvent efficace et semble être la méthode de choix si les sources de résistance au virus sont disponibles. Une option intéressante mais encore peu exploitée serait d'associer la résistance au vecteur *B. tabaci*. Des sources naturelles de résistance à *B. tabaci* ont

été décrites dans des accessions originaires de *S. habrochaites*, *S. pennellii* et *S. pimpinellifolium* (Blauth *et al.* 1998; Delatte *et al.* 2006; Momotaz *et al.* 2010; Rodríguez-López *et al.* 2011; Simmons and Gurr 2005). Ces résistances reposent sur la sécrétion de métabolites secondaires par des trichomes glandulaires présents sur les feuilles (Blauth *et al.* 1998; Muigai *et al.* 2002). Ces composés ont des propriétés à la fois d'antibiose (effet négatif sur la physiologie de l'insecte) et d'antixénose (perturbation du comportement de l'insecte). L'efficacité de ces mécanismes de résistance a été démontrée pour limiter l'infection (Delatte *et al.* 2006) et la dissémination du virus (Rodríguez-López *et al.* 2011).

Une nouvelle voie de contrôle de ces maladies encore peu explorée serait de **brouiller l'interaction entre le virus et le vecteur**, en évitant ainsi que *B. tabaci* ne devienne apte à transmettre les bégomovirus. Cette stratégie est d'autant plus intéressante qu'elle est basée sur l'existence d'une spécificité unique entre une espèce d'aleurode *B. tabaci* et les 288 espèces de bégomovirus décrites jusqu'à présent (Brown *et al.*, 2012). Cette spécificité, ainsi que la persistance du virus dans son vecteur *B. tabaci*, comme nous l'avons démontré préalablement pour le TYLCV (Becker *et al.*, en prép.), suggère l'existence d'une association « intime », dans laquelle à la fois les protéines codées par le virus et le vecteur sont impliqués (pour revue Gray *et al.*, 2014). La neutralisation de l'acquisition virale en saturant le(s) motif(s) des protéines de capsides et/ou les récepteurs cellulaires du vecteur, qui interviennent dans les passages trans-membranaires, semble être une voie possible. Cependant, la mise en œuvre d'une telle stratégie de lutte est dépendante des connaissances encore limitées sur les interactions cellulaires et moléculaires entre les bégomovirus et *B. tabaci*. En effet, de nombreuses zones d'ombres persistent notamment concernant (1) la forme de circulation du virus dans l'insecte vecteur (particule virale, nucléoprotéine...), l'existence de morphes viraux impliqués dans le mouvement à travers le vecteur et adaptés à la transmission (Blanc *et al.*, 2011), et la nature de son acide nucléique (ADN sb ou db, circulaire ou linéaire ...), (2) la description isolée d'une transmission transovarienne du TYLCV à la descendance d'une femelle virulifère de populations israéliennes du biotype B de *B. tabaci* (Ghanim *et al.*, 1998), (3) la présence d'une activité de transcription de certains bégomovirus dans les cellules de *B. tabaci* (Sinisterra *et al.*, 2005), et (4) l'intervention de certaines bactéries endosymbiotiques. Ces bactéries endosymbiotiques ont été suggérées à la fois dans la conservation des particules virales dans l'hémolymphe (Morin *et al.*, 1999), dans l'efficacité de transmission de l'insecte (*Hamiltonella* ; Gottlieb *et al.*, 2010), et dans la distribution et l'abondance des particules virales dans le tractus intestinal et les glandes salivaires (*Rickettsia* ; Kliot *et al.*, 2014). Par ailleurs, au regard des origines procaryotiques de la Rep des géminivirus (pour revue Rojas *et al.*, 2005), l'hypothèse de la répllication du TYLCV dans les bactéries endosymbiotiques de *B. tabaci* mérite d'être explorée (Robert Gilbertson, communication personnelle).

L'utilisation d'une approche transcriptomique (« RNAseq ») a permis d'évaluer l'expression des gènes de *B. tabaci* MEAM1 en présence du *Tomato yellow leaf curl China virus* (TYLCCHV ; Luan *et al.*, 2011). Ces travaux ont montré que la régulation de l'expression de 1606 gènes a été significativement modifiée dans les aleurodes virulifères. Ces gènes sont impliqués dans 157 voies biochimiques différentes, dont celles du cycle cellulaire, du métabolisme primaire, de l'activation des réponses immunitaires des aleurodes et de l'induction du mécanisme d'autophagie dans les

ovaires et les corps gras. Ces travaux démontrent la complexité des interactions entre les bégomovirus et leur insecte vecteur *B. tabaci* et fournissent une feuille de route pour identifier les gènes cibles de *B. tabaci* impliqués dans la vection et orienter les analyses fonctionnelles.

Diversité virale à l'échelle agroécologique : l'approche géo-métagénomique

La diversité virale présente dans les plantes « sauvages » et le passage sur les plantes cultivées (changement d'hôte par saut d'espèce) représente « un des facteurs clefs » de l'émergence des maladies à bégomovirus. Ce facteur est notamment exacerbé par les activités humaines qui favorisent la proximité et la **promiscuité entre les écosystèmes naturels et cultivés** (Alexander *et al.*, 2014). L'interface agroécologique (*i.e.* entre les communautés « sauvages » et agricoles) est composée de plantes cultivées, d'adventices des systèmes de cultures et de plantes non cultivées exotiques, indigènes ou endémiques. Les populations virales présentes dans les écosystèmes naturels et les interfaces agroécologiques n'ont été étudiées que très récemment (Roossinck *et al.*, 2010 ; Malmstrom *et al.*, 2011). Ces travaux ont permis de démontrer que les virus de plantes sont des éléments communs de ces écosystèmes naturels et de ces interfaces (Alexander *et al.*, 2014). Dans leurs écosystèmes naturels, les virus provoquent très rarement des maladies dommageables (Jones, 2009). En effet, dans ces systèmes écologiques non perturbés, on considère que les interactions entre les virus, leurs vecteurs et leurs plantes hôtes sont évolutivement anciennes et relativement stables (Malmstrom *et al.* 2011). La domestication des plantes et la montée en puissance de l'agriculture moderne ont favorisé le transport et la dissémination des espèces végétales dans de nouveaux milieux, et l'apparition récente de nouvelles interactions virus-hôte-vecteur-environnement. L'instabilité de certaines de ces nouvelles interactions semble être à l'origine de certaines de ces nouvelles maladies émergentes dévastatrices (Jones, 2009).

L'avènement de la méthodologie d'amplification en cercle roulant (*rolling circle amplification*, RCA) des génomes de bégomovirus, basée sur l'utilisation de la polymérase *Phi29* (Inoue-Nagata *et al.*, 2004), et la baisse des coûts de séquençage, nous ont permis de contribuer à la description d'une importante diversité de bégomovirus indigènes des îles du sud-ouest de l'océan Indien (SWIO) et d'Afrique. Cependant, cette diversité a été décrite, en grande majorité, à partir de plantes cultivées exotiques. L'analyse des séquences nucléotidiques a permis de démontrer que les génomes viraux caractérisés étaient le fruit d'intenses recombinaisons, impliquant bien souvent des virus d'origines inconnues, et non caractérisés (Lefeuvre *et al.*, 2007). L'ensemble de nos données, ainsi que celles de la littérature, argumentent l'hypothèse d'une **importante diversité de géminivirus encore non décrite dans les écosystèmes naturels** et la superposition partielle de leurs aires de répartition et de leur gamme d'hôte. La perturbation des aires de distribution des espèces végétales naturelles par une agriculture intensive entraîne des changements de la diversité, de la démographie et de la dynamique évolutive des communautés virales « sauvages » à l'origine des principaux phénomènes d'émergence. Notre objectif à court terme sera de poursuivre notre étude de la diversité et de la répartition géographique des géminivirus dans son ensemble, à l'échelle des interfaces agroécologiques, sur les plantes cultivées et non cultivées, et sans *a priori* sur la

présence ou l'absence de symptômes. Cette mission représente une priorité à la fois dans la compréhension des processus évolutifs aboutissant à l'émergence d'un virus indigène sur une plante cultivée par changement d'hôte et dans la lutte et la prévention des maladies émergentes à bégomovirus.

L'utilisation des nouvelles technologies de séquençage à haut débit (*Next-Generation Sequencing*, NGS), nous offre l'opportunité de sonder en profondeur la diversité génétique des gémivirus à l'échelle des écosystèmes des îles SWIO et de comparer les populations virales présentes dans les environnements naturels et perturbés par l'Homme, par une approche géo-métagénomique (déf. métagénomique : séquençage massif et aléatoire de fragments nucléotidiques extraits d'un prélèvement). Cette approche innovante basée sur l'utilisation d'un prélèvement géo-référencé à l'interface agro-écologique permettra non seulement d'étudier de manière quasi-exhaustive la diversité des populations de gémivirus et plus largement des communautés virales dans les plantes cultivées et non cultivées mais également leur répartition dans le temps et dans l'espace, et du potentiel fonctionnel global des communautés virales. De part, l'isolement géographique, la richesse floristique (deuxième *hotspot* de diversité mondial), l'empiètement des milieux cultivés sur les milieux naturels, les îles SWIO forment un laboratoire à ciel ouvert et un lieu idéal pour la réalisation de cette étude. La principale nouveauté de notre travail sera de déterminer et de quantifier les forces évolutives opérant simultanément à l'échelle d'une famille virale entière et d'un environnement complexe, et de fournir des informations nouvelles sur la composition et la diversité des communautés virales des îles SWIO. Nous aurons également l'opportunité de mesurer l'impact de l'anthropisation sur la diversité virale avec la détermination des facteurs clefs pouvant entraîner l'émergence de certaines populations virales. Collectivement, notre projet fournira des données essentielles sur les dynamiques écologiques et évolutives impliquées dans l'émergence des populations virales, à l'échelle du génome d'un virus jusqu'à l'échelle de l'écosystème tout entier.

Diversité des populations virales à l'échelle de l'hôte : Evolution expérimentale

Les souches émergentes du MSV et du TYLCV sont des exemples typiques d'une émergence par saut d'hôte suite à l'introduction de plantes hôtes sensibles du Nouveau Monde dans leur aire d'origine. Ces virus sont également des exemples typiques de virus à large gamme de plantes hôtes capable de se « réfugier » sur des plantes alternatives pendant les périodes d'inter-cultures. Cette capacité d'adaptation et d'évolution des gémivirus est liée à la fois à leurs taux de mutation et de recombinaison élevés (Cf. paragraphe 5). Malgré l'importance de ces deux facteurs évolutifs, leurs implications et leurs interactions dans l'évolution et l'adaptation des populations virales à de nouvelles contraintes environnementales (e.g. changement de plante hôte) sont encore mal comprises. La capacité d'adaptation d'une population virale dans un environnement complexe et hétérogène peut être visualisée par un paysage adaptatif (*fitness landscape*). Ce paysage adaptatif est souvent représenté par des chaînes de montagnes avec des pics adaptatifs (*fitness élevée*) et des vallées à faible valeur adaptative (*fitness faible*). Dans quelle mesure une population virale peut-elle se déplacer dans un paysage adaptatif, d'un pic de fitness à un autre (e.g. d'une plante

non cultivée à une plante cultivée), sachant qu'elle devra traverser des régions défavorables ? Quel paysage adaptatif est disponible à une population virale et dans quelle mesure est-il perturbé par les activités humaines ? Ces questions fondamentales concernent également l'influence de la mutation et de la recombinaison sur le pouvoir pathogène des virus et sur l'émergence de nouveaux variants portant des propriétés biologiques nouvelles.

Dans le cadre d'une approche expérimentale, nous nous proposons d'étudier (1) l'impact de la variabilité de l'hôte (différentes familles de plantes, cultivée *versus* non cultivée, résistante *versus* sensible) sur l'évolution des populations virales et de leur pouvoir pathogène, et (2) les bases moléculaires du pouvoir pathogène. L'espace séquentiel accessible au virus en fonction des espèces de plantes hôtes sera estimé par l'étude de la diversité de la population virale par séquençage à haut-débit en conditions contrôlées en laboratoire de confinement NS3. De manière importante, ces études porteront à la fois sur des virus invasifs et émergents sur les cultures comme le TYLCV et le MSV-A et des virus indigènes principalement décrits sur plantes non cultivées (*Bean leaf curl Madagascar virus*, MSV-B). Cette stratégie expérimentale permettra de mieux comprendre les mécanismes d'adaptation virale à l'échelle de la plante hôte et les risques épidémiologiques associés. Aussi, forts de nos connaissances et des outils disponibles sur le modèle du TYLCV-Tomate et du MSV-Maïs (collection de clones agroinfectieux), nous étudierons les bases moléculaires des composantes quantitatives du pouvoir pathogène (agressivité, *fitness* et efficacité de transmission) par génétique inverse (construction de mutants et de génomes chimériques).

Basé sur une problématique agronomique de première importance pour l'agriculture de subsistance, notre projet devrait permettre à la fois d'évaluer les risques, les conditions et les facteurs moléculaires et écologiques impliqués dans l'émergence d'un des groupes de virus les plus dommageables des cultures, et de mieux comprendre les dynamiques évolutives et spatio-temporelles à l'échelle de la plante et des interfaces agro-écologiques entre les plantes cultivées et non cultivées.



Le bonheur ce n'est pas la destination, c'est le chemin...

Références bibliographiques

- Abhary, M., Patil, B. & Fauquet, C. (2007). Molecular Biodiversity, Taxonomy, and Nomenclature of Tomato Yellow Leaf Curl-like Viruses. In *Tomato yellow leaf curl disease*, pp. 85-118. Edited by H. Czosnek: Springer Netherlands.
- Alexander, H. M., Mauck, K. E., Whitfield, A. E., Garrett, K. A. & Malmstrom, C. M. (2014). Plant-virus interactions and the agro-ecological interface. *European Journal of Plant Pathology* 138, 529-547.
- Ammar, E. D., Gargani, D., Lett, J. M. & Peterschmitt, M. (2009). Large accumulations of maize streak virus in the filter chamber and midgut cells of the leafhopper vector *Cicadulina mbila*. *Archives of Virology* 154, 255-262.
- Anderson, P. K., Cunningham, A. a., Patel, N. G., Morales, F. J., Epstein, P. R. & Daszak, P. (2004). Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 19, 535-544.
- Ariyo, O. A., Koerbler, M., Dixon, A. G. O., Atiri, G. I. & Winter, S. (2005). Molecular variability and distribution of Cassava mosaic begomoviruses in Nigeria. *Journal of Phytopathology* 153, 226-231.
- Bedford, I. D., Briddon, R. W., Brown, J. K., Rosell, R. C. & Markham, P. G. (1994). Geminivirus-Transmission and Biological Characterisation of Bemisia tabaci (Gennadius) Biotypes from Different Geographic Regions. *Annals of Applied Biology* 125, 311-325.
- Berrie, L. C., Palmer, K. E., Rybicki, E. P. & Rey, M. E. C. (1998). Molecular characterisation of a distinct South African cassava infecting geminivirus. *Archives of Virology* 143, 2253-2260.
- Betancourt, A. J. & Bollback, J. P. (2006). Fitness effects of beneficial mutations: the mutational landscape model in experimental evolution. *Current Opinion Genetic Development* 16, 618-623.
- Betancourt, M., Fereres, A., Fraile, A. & García-Arenal, F. (2008). Estimation of the Effective Number of Founders That Initiate an Infection after Aphid Transmission of a Multipartite Plant Virus. *Journal of Virology* 82, 12416-12421.
- Bigarré, L. (1999). Diversité des Gémiviruses et Interactions avec leurs Hôtes, p. 118: Université Paris XI, *Thèse de doctorat en sciences*. France.
- Blanc, S., Uzest, M. & Drucker, M. (2011). New research horizons in vector-transmission of plant viruses. *Current Opinion Microbiology* 14, 483-491.
- Blauth, S. L., Churchill, G. A. & Mutschler, M. A. (1998). Identification of quantitative trait loci associated with acylsugar accumulation using intraspecific populations of the wild tomato, *Lycopersicon pennellii*. *Theoretical and Applied Genetics* 96, 458-467.
- Bock, K. R. & Harrison, B. D. (1985). African cassava mosaic virus. *Annals of Applied Biology* 297.
- Bottcher, B., Unseld, S., Ceulemans, H., Russell, R. B. & Jeske, H. (2004). Geminale structures of African cassava mosaic virus. *Journal of Virology* 78, 6758-6765.
- Brault, V., Herrbach, E. & Reinbold, C. (2007). Electron microscopy studies on luteovirid transmission by aphids. *Micron* 38, 302-312.
- Brault, V., Uzest, M., Monsion, B., Jacquot, E. & Blanc, S. (2010). Aphids as transport devices for plant viruses. *C R Biologies* 333, 524-538.

- Briddon, R. W., Bull, S. E., Amin, I., Mansoor, S., Bedford, I. D., Rishi, N., Siwatch, S. S., Zafar, Y., Abdel-Salam, A. M. & Markham, P. G. (2004). Diversity of DNA 1: a satellite-like molecule associated with monopartite begomovirus-DNA beta complexes. *Virology* 324, 462-474.
- Briddon, R. W., Mansoor, S., Bedford, I. D., Pinner, M. S., Saunders, K., Stanley, J., Zafar, Y., Malik, K. A. & Markham, P. G. (2001). Identification of DNA components required for induction of cotton leaf curl disease. *Virology* 285, 234-243.
- Briddon, R. W. & Stanley, J. (2006). Subviral agents associated with plant single-stranded DNA viruses. *Virology* 344, 198-210.
- Brown, J. K., Fauquet, C. M., Briddon, R. W., Zerbini, M., Moriones, E. & Navas-Castillo, J. (2012). Geminiviridae. In: King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (Eds.), *Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier/Academic Press, London, pp. 351-373.
- Bull, S. E., Briddon, R. W., Sserubombwe, W. S., Ngugi, K., Markham, P. G. & Stanley, J. (2006). Genetic diversity and phylogeography of cassava mosaic viruses in Kenya. *Journal of General Virology* 87, 3053-3065.
- Campos-Olivas, R., Louis, J. M., Clerot, D., Gronenborn, B. & Gronenborn, A. M. (2002). The structure of a replication initiator unites diverse aspects of nucleic acid metabolism. *Proceedings of National Academic of Sciences USA* 99, 10310-10315.
- Cohen, S. & Antignus, Y. (1994). Tomato yellow leaf curl virus, a whitefly-borne geminivirus of tomatoes. *Advances in Disease Vector Research* 10, 259-288.
- Cohen, S. & Harpaz, I. (1964). Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius). *Entomologia Experimentalis and Applicata* 7, 155-166.
- Cooper, I. & Jones, R. A. (2006). Wild plants and viruses: under-investigated ecosystems. *Advances in Virus Research* 67, 1-47.
- Czosnek, H. & Ghanim, M. (2012). Back to Basics: Are Begomoviruses Whitefly Pathogens? *Journal of Integrated Agronomy* 11, 225-234.
- Czosnek, H., Ghanim, M., Morin, S., Rubinstein, G., Fridman, V. & Zeidan, M. (2001). Whiteflies: vectors, and victims (?) of geminiviruses. *Advances in Virus Research* 57, 291-322.
- Darlington, P. J. (1972). Competition, Competitive Repulsion, and Coexistence. *Proceedings of National Academic of Sciences USA* 69, 3151-3155.
- De Bruyn, A., Villemot, J., Lefeuvre, P., Villar, E., Hoareau, M., Harimalala, M., Abdoul-Karime, A. L., Abdou-Chakour, C., Reynaud, B., Harkins, G. W., Varsani, A., Martin, D. P. & Lett, J.-M. (2012). East African cassava mosaic-like viruses from Africa to Indian ocean islands: molecular diversity, evolutionary history and geographical dissemination of a bipartite begomovirus. *BMC Evolutionary Biology* 12.
- De León, A. C. (2013). Two CMD-Associated DNA sequences Enhance Geminivirus Symptoms and Break Resistance in Cassava and Arabidopsis. In *7th International Geminivirus Symposium*, p. 86. November 3-9, Hangzhou, China.
- Delatte, H., Reynaud, B., Lett, J. M., Peterschmitt, M., Granier, M., Ravololonandrianina, J. & Goldbach, R. (2002). First molecular identification of a begomovirus in Madagascar. *Plant Disease* 86, 1404.
- Delatte, H., Dalmon, A., Rist, D., Soustrade, I., Wuster, G., Lett, J. M., Goldbach, R. W., Peterschmitt, M. & Reynaud, B. (2003). Tomato yellow leaf curl virus can be acquired and transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) from tomato fruit. *Plant Disease* 87, 1297-1300.

- Delatte, H., Holota, H., Naze, F., Peterschmitt, M., Reynaud, B. & Lett, J. M. (2005a). The presence of both recombinant and nonrecombinant strains of Tomato yellow leaf curl virus on tomato in Reunion Island. *Plant Pathology* 54, 262-262.
- Delatte, H. & Reynaud, B. (2005b). A new silverleaf-inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research* 95, 29-35.
- Delatte, H., Martin, D. P., Naze, F., Goldbach, R., Reynaud, B., Peterschmitt, M. & Lett, J. M. (2005c). South West Indian Ocean islands tomato begomovirus populations represent a new major monopartite begomovirus group. *Journal of General Virology* 86, 1533-1542.
- Delatte, H., David, P., Granier, M., Lett, J. M., Goldbach, R., Peterschmitt, M. & Reynaud, B. (2006a). Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetic Research* 87, 109-124.
- Delatte, H., Holota, H., Reynaud, B. & Dintinger, J. (2006b). Characterisation of a quantitative resistance to vector transmission of Tomato yellow leaf curl virus in *Lycopersicon pimpinellifolium*. *European Journal of Plant Pathology* 114, 245.
- Delatte, H., Naze, F., Cottineau, J. S., Lefeuvre, P., Hostachy, B., Reynaud, B. & Lett, J. M. (2006c). Occurrence of Tomato chlorosis virus on tomato in Reunion Island. *Plant Pathology* 55, 289-289.
- Delatte, H., Holota, H., Moury, B., Reynaud, B., Lett, J.-M. & Peterschmitt, M. (2007a). Evidence for a founder effect after introduction of Tomato yellow leaf curl virus-mild in an insular environment. *Journal of Molecular Evolution* 65, 112-118.
- Delatte, H., Lett, J., Lefeuvre, P., Reynaud, B. & Peterschmitt, M. (2007b). An insular environment before and after TYLCV introduction, pp. 13-23. Edited by H. Czosnek: *Tomato yellow leaf curl disease*. Springer Netherlands.
- Dinsdale, A., Cook, L., Riginos, C., Buckley, Y. M. & Barro, P. D. (2010). Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103, 196-208.
- Duffy, S. & Holmes, E. C. (2007). Multiple introductions of the Old World begomovirus Tomato yellow leaf curl virus into the New World. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 7114-7117.
- Engel, S., Heger, T., Mancini, R., Herzog, F., Kartenbeck, J., Hayer, A. & Helenius, A. (2011). Role of endosomes in simian virus 40 entry and infection. *Journal of Virology* 85, 4198-4211.
- Escriu, F., Fraile, A. & Garcia-Arenal, F. (2007). Constraints to genetic exchange support gene coadaptation in a tripartite RNA virus. *PLoS Pathogens* 3, e8.
- Fargette, D., Konaté, G., Fauquet, C., Muller, E., Peterschmitt, M. & Thresh, J. M. (2006). Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 44, 235-260.
- Fauquet, C. & Fargette, D. (1990). African cassava mosaic virus: etiology, epidemiology and control. *Plant Disease* 74, 404-411.
- Fauquet, C. M., Briddon, R. W., Brown, J. K., Moriones, E., Stanley, J., Zerbini, M. & Zhou, X. (2008). Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* 153, 783-821.
- Fauquet, C. M., Sawyer, S., Idris, A. M. & Brown, J. K. (2005). Sequence analysis and classification of apparent recombinant begomoviruses infecting tomato in the Nile and Mediterranean basins. *Phytopathology* 95, 549-555.
- Fiallo-Olive, E., Martinez-Zubiaur, Y., Moriones, E. & Navas-Castillo, J. (2012). A novel class of DNA satellites associated with New World begomoviruses. *Virology* 426, 1-6.

- Fondong, V. N., Pita, J. S., Rey, M. E., de Kochko, A., Beachy, R. N. & Fauquet, C. M. (2000a). Evidence of synergism between African cassava mosaic virus and a new double-recombinant geminivirus infecting cassava in Cameroon. *Journal of General Virology* 81, 287-297.
- Franz, A. W. E., van der Wilk, F., Verbeek, M., Dullemans, A. M. & Van den Heuvel, J. F. J. M. (1999). Faba bean necrotic yellows virus (Genus Nanovirus) requires a helper factor for its aphid transmission. *Virology* 262, 210-219.
- Froissart, R., Doumayrou, J., Vuillaume, F., Alizon, S. & Michalakakis, Y. (2010). The virulence-transmission trade-off in vector-borne plant viruses: a review of (non-)existing studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 1907-1918.
- Ganeshan, S. & Abeeluck, D. (2000). First record of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Hemiptera : Aleyrodidae), from Mauritius. *African Entomology* 8, 303-304.
- Ge, L. M., Zhang, J. T., Zhou, X. P. & Li, H. Y. (2007). Genetic structure and population variability of tomato yellow leaf curl China virus. *Journal of Virology* 81, 5902-5907.
- Gilbertson, R. L. (2013). New insights into cell-to-cell and long-distance movement of bipartite begomoviruses. In *7th International Geminivirus Symposium*, p. 91. November 3-9, Hangzhou, China.
- Ghanim, M., Morin, S., Zeidan, M. & Czosnek, H. (1998). Evidence for transovarial transmission of tomato yellow leaf curl virus by its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Virology* 240, 295-303.
- Ghanim, M. (2014). A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus* (Geminiviridae; Begomovirus) by its whitefly vector. *Virus Research*, in press.
- Gildow, F. E. (1993). Evidence for receptor-mediated endocytosis regulating luteovirus acquisition by aphids. *Phytopathology* 83, 270-277.
- Gottlieb, Y., Zchori-Fein, E., Mozes-Daube, N., Kontsedalov, S., Skaljic, M., Brumin, M., Sobol, I., Czosnek, H., Vavre, F., Fleury, F. & Ghanim, M. (2010). The transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. *Journal of Virology* 84, 9310-9317.
- Gray, S., Cilia, M. & Ghanim, M. (2014). Circulative, "nonpropagative" virus transmission: an orchestra of virus-, insect-, and plant-derived instruments. *Advances in Virus Research* 89, 141-199.
- Harimalala, M., Chiroleu, F., Giraud-Carrier, C., Hoareau, M., Zinga, I., Andriamampianina, J. A., Velombola, J. A., Ranomenjanahary, S., Andrianjaka, A., Reynaud, B., Lefeuvre, P. & Lett, J.-M. (2014). Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plant Pathology*, accepted.
- Harimalala, M., De Bruyn, A., Hoareau, M., Andrianjaka, A., Ranomenjanahary, S., Reynaud, B., Lefeuvre, P. & Lett, J. M. (2013). Molecular characterization of a new alphasatellite associated with a cassava mosaic geminivirus in Madagascar. *Archives of Virology* 158, 1829-1832.
- Harimalala, M., Lefeuvre, P., De Bruyn, A., Tiendrebeogo, F., Hoareau, M., Villemot, J., Ranomenjanahary, S., Andrianjaka, A., Reynaud, B. & Lett, J.-M. (2012). A novel cassava-infecting begomovirus from Madagascar: cassava mosaic Madagascar virus. *Archives of Virology* 157, 2027-2030.
- Harrison, B. D., Lennon, A. M., Massalski, P. R., Robinson, D. J. & Thomas, J. E. (1987). Geographical variation in geminivirus isolates associated with cassava mosaic disease. *Scottish Crop Research Institute. Annual Report*.
- Harrison, B. D., Liu, Y. L., Khalid, S., Hameed, S., OtimNape, G. W. & Robinson, D. J. (1997). Detection and relationships of cotton leaf curl virus and allied whitefly-transmitted geminiviruses occurring in Pakistan. *Annals of Applied Biology* 130, 61-75.

- Harrison, B. D. & Robinson, D. J. (1999). Natural genomic and antigenic variation in whitefly-transmitted geminiviruses (Begomoviruses). *Annual Review of Phytopathology* 37, 369-398.
- Herrbach, E., Sauvion, N., Boudon-Padieu, E., Lett, J.-M., Reynaud, B. & Sforza, R. (2013). Une relation trophique originale : La vection entomophile d'agents pathogènes. In *Des Insectes et des Plantes*, pp. 1-24. Edited by P.-A. C. Denis Thiery, Nicolas Sauvion, Frédéric Marion-Poll: Edition IRD-Quae.
- Hillocks, R. & Thresh, M. (2000). Cassava mosaic and cassava brown streak virus diseases in Africa. *Roots* 7.
- Holmes, E. C. & Rambaut, A. (2004). Viral evolution and the emergence of SARS coronavirus. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359, 1059-1065.
- Idris, A. M. & Brown, J. K. (2002). Molecular analysis of Cotton leaf curl virus-Sudan reveals an evolutionary history of recombination. *Virus Genes* 24, 249-256.
- Inoue-Nagata, A. K., Albuquerque, L. C., Rocha, W. B. & Nagata, T. (2004). A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage [phi]29 DNA polymerase. *Journal of Virological Methods* 116, 209-211.
- Isnard, M., Granier, M., Frutos, R., Reynaud, B. & Peterschmitt, M. (1998). Quasispecies nature of three maize streak virus isolates obtained through different modes of selection from a population used to assess response to infection of maize cultivars. *Journal of General Virology* 79, 3091-3099.
- Jeske, H. (2009). Geminiviruses. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 331, 185-226.
- Jeske, H., Lutgemeier, M. & Preiss, W. (2001). DNA forms indicate rolling circle and recombination-dependent replication of Abutilon mosaic virus. *EMBO Journal* 20, 6158-6167.
- Jiang, Y. X., DeBlas, C., Barrios, L. & Fereres, A. (2000). Correlation between whitefly (Homoptera : Aleyrodidae) feeding behavior and transmission of tomato yellow leaf curl virus. *Annals of the Entomological Society of America* 93, 573-579.
- Jones, R. A. C. (2009). Plant virus emergence and evolution: Origins, new encounter scenarios, factors driving emergence, effects of changing world conditions, and prospects for control. *Virus Research* 141, 113-130.
- Just, K., Leke, W. N., Sattar, M. N., Luik, A. & Kvarnheden, A. (2014). Detection of Tomato yellow leaf curl virus in imported tomato fruit in northern Europe. *Plant Pathology*, in press.
- Kimmins, F. M. & Bosque-Perez, N. A. (1996). Electrical penetration graphs from *Cicadulina* spp. and the inoculation of a persistent virus into maize. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80, 46-49.
- Kliot, A., Cilia, M., Czosnek, H. & Ghanim, M. (2014). Implication of the Bacterial Endosymbiont *Rickettsia* spp. in Interactions of the Whitefly *Bemisia tabaci* with Tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virology* 88, 5652-5660.
- Lefeuvre, P., Delatte, H., Naze, F., Dogley, W., Reynaud, B. & Lett, J. M. (2007a). A new tomato leaf curl virus from the Seychelles archipelago. *Plant Pathology* 56, 342-342.
- Lefeuvre, P., Lett, J.-M., Reynaud, B. & Martin, D. P. (2007b). Avoidance of Protein Fold Disruption in Natural Virus Recombinants. *PLoS Pathogens* 3, e181-e181.
- Lefeuvre, P., Martin, D. P., Hoareau, M., Naze, F., Delatte, H., Thierry, M., Varsani, A., Becker, N., Reynaud, B. & Lett, J. M. (2007c). Begomovirus 'melting pot' in the south-west Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology* 88, 3458-3468.

- Lefeuvre, P., Lett, J. M., Varsani, a. & Martin, D. P. (2009). Widely conserved recombination patterns among single-stranded DNA viruses. *Journal of Virology* 83, 2697-2707.
- Lefeuvre, P., Martin, D. P., Harkins, G., Lemey, P., Gray, A. J. a., Meredith, S., Lakay, F., Monjane, A., Lett, J.-M., Varsani, A. & Heydarnejad, J. (2010). The Spread of Tomato Yellow Leaf Curl Virus from the Middle East to the World. *PLoS Pathogens* 6, e1001164-e1001164.
- Legg, J. P. & Fauquet, C. M. (2004). Cassava mosaic geminiviruses in Africa. *Plant Molecular Biology* 56, 585-599.
- Lett, J. M., Delatte, H., Naze, F. & Reynaud, B. (2004). A new tomato leaf curl virus from Mayotte. *Plant Disease* 88, 681-681.
- Lett, J. M., Granier, M., Grondin, M., Turpin, P., Molinaro, F., Chiroleu, F., Peterschmitt, M. & Reynaud, B. (2001a). Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101, 93-109.
- Lett, J. M., Reynaud, B. & Peterschmitt, M. (2001b). Les mécanismes de la transmission circulante des virus de plante par insecte piqueurs - suceurs. *Virologie* 5, 169-181.
- Lett, J. M., Granier, M., Hippolyte, I., Grondin, M., Royer, M., Blanc, S., Reynaud, B. & Peterschmitt, M. (2002). Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* 92, 65-74.
- Lett, J. M., Lefeuvre, F., Naze, F., Delatte, H., Mohamed-Ali, Y. & Reynaud, B. (2006). First report of Tobacco leaf curl Zimbabwe virus affecting tobacco in the Comoros Archipelago. *Plant Pathology* 55, 567-567.
- Lett, J. M., Lefeuvre, P., Couston, L., Hoareau, M., Thierry, M., Reynaud, B., Martin, D. P. & Varsani, A. (2009). Complete genomic sequences of Tomato yellow leaf curl Mali virus isolates infecting tomato and pepper from the North Province of Cameroon. *Archives of Virology* 154, 535-540.
- Lett, J. M., Péréfarres, F., Hoareau, M., Lefeuvre, P., De Bruyn, A., Dottin, M., Prior, P., Wicker, E. & Umaharan, P. (2011). Tomatoes showing yellow leaf curl symptoms in the island of Grenada exhibit an infection with Tomato yellow leaf curl virus either alone or in combination with Potato yellow mosaic virus. *New Disease Reports* 24, 19-19.
- Lombaert, E., Guillemaud, T., Cornuet, J.-M., Malausa, T., Facon, B. & Estoup, A. (2010). Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PLoS ONE* 5, e9743-e9743.
- Luan, J. B., Li, J. M., Varela, N., Wang, Y. L., Li, F. F., Bao, Y. Y., Zhang, C. X., Liu, S. S. & Wang, X. W. (2011). Global analysis of the transcriptional response of whitefly to tomato yellow leaf curl China virus reveals the relationship of coevolved adaptations. *Journal of Virology* 85, 3330-3340.
- Malmstrom, C. M., Melcher, U. & Bosque-Perez, N. A. (2011). The expanding field of plant virus ecology: Historical foundations, knowledge gaps, and research directions. *Virus Research* 159, 84-94.
- Mansoor, S., Briddon, R. W., Zafar, Y. & Stanley, J. (2003). Geminivirus disease complexes: an emerging threat. *Trends in Plant Science* 8, 128-134.
- Martin, B., Collar, J. L., Tjallingii, W. F. & Fereres, A. (1997). Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. *Journal of General Virology* 78, 2701-2705.
- Martin, D. & Shepherd, D. (2009). The epidemiology, economic impact and control of maize streak disease. *Food Security* 1, 305-315.

- Martin, D. P., Lefeuvre, P., Varsani, A., Hoareau, M., Semegni, J.-Y., Dijoux, B., Vincent, C., Reynaud, B. & Lett, J.-M. (2011). Complex recombination patterns arising during geminivirus coinfections preserve and demarcate biologically important intra-genome interaction networks. *PLoS Pathogens* 7, e1002203-e1002203.
- Martin, D. P., van der Walt, E., Posada, D. & Rybicki, E. P. (2005). The evolutionary value of recombination is constrained by genome modularity. *PLoS Genetics* 1, e51.
- Maruthi, M. N., Seal, S., Colvin, J., Briddon, R. W. & Bull, S. E. (2004). East African cassava mosaic Zanzibar virus - a recombinant begomovirus species with a mild phenotype. *Archives of Virology* 149, 2365-2377.
- Massé, D., Lefeuvre, P., Delatte, H., Abdoul Karime, A. L., Hostachy, B., Reynaud, B. & Lett, J. M. (2008). Tomato chlorosis virus: first report in Mayotte Island. *Plant Pathology* 57, 388-388.
- Melgarejo, T. A., Kon, T., Rojas, M. R., Paz-Carrasco, L., Zerbini, F. M. & Gilbertson, R. L. (2013). Characterization of a new world monopartite begomovirus causing leaf curl disease of tomato in Ecuador and Peru reveals a new direction in geminivirus evolution. *Journal of Virology* 87, 5397-5413.
- Momotaz, A., Scott, J. W. & Schuster, D. J. (2010). Identification of Quantitative Trait Loci Conferring Resistance to Bemisia tabaci in an F-2 Population of Solanum lycopersicum x Solanum habrochaites Accession LA1777. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 135, 134-142.
- Monde, G., Walangululu, J., Winter, S. & Bragard, C. (2010). Dual infection by cassava begomoviruses in two leguminous species (Fabaceae) in Yangambi, Northeastern Democratic Republic of Congo. *Archives of Virology* 155, 1865-1869.
- Monjane, A. L., Harkins, G. W., Martin, D. P., Lemey, P., Lefeuvre, P., Shepherd, D. N., Oluwafemi, S., Simuyandi, M., Zinga, I., Komba, E. K., Lakoutene, D. P., Mandakombo, N., Mboukoulida, J., Semballa, S., Tagne, A., Tiendrébéogo, F., Erdmann, J. B., van Antwerpen, T., Owor, B. E., Flett, B., Ramusi, M., Windram, O. P., Syed, R., Lett, J.-M., Briddon, R. W., Markham, P. G., Rybicki, E. P. & Varsani, A. (2011a). Reconstructing the History of Maize Streak Virus Strain A Dispersal To Reveal Diversification Hot Spots and Its Origin in Southern Africa. *Journal of Virology* 85, 9623-9636.
- Morin, S., Ghanim, M., Zeidan, M., Czosnek, H., Verbeek, M. & Van den Heuvel, J. F. J. M. (1999). A GroEL homologue from endosymbiotic bacteria of the whitefly bemisia tabaci is implicated in the circulative transmission of tomato yellow leaf curl virus. *Virology* 256, 75-84.
- Moury, B., Fabre, F. & Senoussi, R. (2007). Estimation of the number of virus particles transmitted by an insect vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 17891-17896.
- Mubin, M., Briddon, R. W. & Mansoor, S. (2009). Complete nucleotide sequence of chili leaf curl virus and its associated satellites naturally infecting potato in Pakistan. *Archives of Virology* 154, 365-368.
- Muigai, S. G., Schuster, D. J., Snyder, J. C., Scott, J. W., Bassett, M. J. & McAuslane, H. J. (2002). Mechanisms of resistance in Lycopersicon germplasm to the whitefly Bemisia argentifolii. *Phytoparasitica* 30, 347-360.
- Navas-Castillo, J., Fiallo-Olive, E. & Sanchez-Campos, S. (2011). Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. Edited by N. K. Van Alfen, G. Bruening & J. E. Leach. In *Annual Review of Phytopathology*, Vol 49, pp. 219-248.
- Nawaz-Ul-Rehman, M. S. & Fauquet, C. M. (2009). Evolution of geminiviruses and their satellites. *Febs Letters* 583, 1825-1832.
- Ndunguru, J., Legg, J. P., Aveling, T. A., Thompson, G. & Fauquet, C. M. (2005). Molecular biodiversity of cassava begomoviruses in Tanzania: evolution of cassava geminiviruses in Africa

- and evidence for East Africa being a center of diversity of cassava geminiviruses. *Virology Journal* 2, 21.
- Ogbe, F. O., Dixon, A. G. O., Hughes, J. D., Alabi, O. J. & Okechukwu, R. (2006). Status of cassava begomoviruses and their new natural hosts in Nigeria. *Plant Disease* 90, 548-553.
- Ohnishi, J., Kitamura, T., Terami, F. & Honda, K. (2009). A selective barrier in the midgut epithelial cell membrane of the nonvector whitefly *Trialeurodes vaporariorum* to Tomato yellow leaf curl virus uptake. *Journal of General Plant Pathology* 75, 131-139.
- Oliver, K. M., Degnan, P. H., Burke, G. R. & Moran, N. A. (2010). Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annual Review of Entomology* 55, 247-266.
- Otto, S. P. & Gerstein, A. C. (2006). Why have sex? The population genetics of sex and recombination. *Biochemical Society Transactions* 34, 519-522.
- Owor, B. E., Martin, D. P., Shepherd, D. N., Edema, R., Monjane, A. L., Rybicki, E. P., Thomson, J. A. & Varsani, A. (2007). Genetic analysis of maize streak virus isolates from Uganda reveals widespread distribution of a recombinant variant. *Journal of General Virology* 88, 3154-3165.
- Padidam, M., Sawyer, S. & Fauquet, C. M. (1999). Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265, 218-225.
- Pande, D., Kraberger, S., Lefeuvre, P., Lett, J. M., Shepherd, D. N., Varsani, A. & Martin, D. P. (2012). A novel maize-infecting mastrevirus from La Reunion Island. *Archives of Virology* 157, 1617-1621.
- Patil, B. L. & Fauquet, C. M. (2009). Cassava mosaic geminiviruses: actual knowledge and perspectives. *Molecular Plant Pathology* 10, 685-701.
- Péréfarres, F., Thébaud, G., Lefeuvre, P., Chiroleu, F., Rimbaud, L., Hoareau, M., Reynaud, B. & Lett, J. M. (2014). Frequency-dependent assistance as a way out of competitive exclusion between two strains of an emerging virus. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20133374.
- Péréfarres, F., Thierry, M., Becker, N., Lefeuvre, P., Reynaud, B., Delatte, H. & Lett, J.-M. (2012). Biological Invasions of Geminiviruses: Case Study of TYLCV and Bemisia tabaci in Reunion Island. *Viruses* 4, 3665-3688.
- Peterschmitt, M., Granier, M., Mekdoud, R., Dalmon, A., Gambin, O., Vayssieres, J. F. & Reynaud, B. (1999). First Report of Tomato Yellow Leaf Curl Virus in Réunion Island. *Plant Disease* 83, 303-303.
- Pico, B., Diez, M. J. & Nuez, F. (1996). Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop .2. The Tomato yellow leaf curl virus - A review. *Scientia Horticulturae* 67, 151-196.
- Pita, J. S., Fondong, V. N., Sangare, A., Otim-Nape, G. W., Ogwal, S. & Fauquet, C. M. (2001a). Recombination, pseudorecombination and synergism of geminiviruses are determinant keys to the epidemic of severe cassava mosaic disease in Uganda. *Journal of General Virology* 82, 655-665.
- Reckhaus, P. (1997). Maladies et ravageurs des cultures maraîchères: A l'exemple de Madagascar. GTZ, Margraf.
- Reynaud, B. (1988). Transmission des virus de la striure, du stripe et de la mosaïque du maïs par leurs vecteurs *Cicadulina mbila* (Naude, 1924) et *Peregrinus maidis* (Ashmead, 1890)(Homoptera), p. 173. *Université de Montpellier*, thèse de doctorat en sciences.
- Reynaud, B. & M., P. (1992). A study of the mode of transmission of maize streak virus by *Cicadulina mbila* using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Annals of Applied Biology* 121, 85-94.

- Rodriguez-Lopez, M. J., Garzo, E., Bonani, J. P., Fereres, A., Fernandez-Munoz, R. & Moriones, E. (2011). Whitefly Resistance Traits Derived from the Wild Tomato *Solanum pimpinellifolium* Affect the Preference and Feeding Behavior of *Bemisia tabaci* and Reduce the Spread of Tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 101, 1191-1201.
- Rojas, M. R., Hagen, C., Lucas, W. J. & Gilbertson, R. L. (2005). Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 43, 361-394.
- Roossinck, M. J., Saha, P., Wiley, G. B., Quan, J., White, J. D., Lai, H., Chavarria, F., Shen, G. A. & Roe, B. A. (2010). Ecogenomics: using massively parallel pyrosequencing to understand virus ecology. *Molecular Ecology* 19, 81-88.
- Rosell, R. C., Torres Jerez, I. & Brown, J. K. (1999). Tracing the geminivirus-whitefly transmission pathway by polymerase chain reaction in whitefly extracts, saliva, hemolymph, and honeydew. *Virology* 89, 239-246.
- Sanderfoot, A. A. & Lazarowitz, S. G. (1995). Cooperation in viral movement: The geminivirus BL1 movement protein interacts with BR1 and redirects it from the nucleus to the cell periphery. *Plant Cell* 7, 1185-1194.
- Sattar, M. N., Kvarnheden, A., Saeed, M. & Briddon, R. W. (2013). Cotton leaf curl disease - an emerging threat to cotton production worldwide. *Journal of General Virology* 94, 695-710.
- Saunders, K., Bedford, I. D., Briddon, R. W., Markham, P. G., Wong, S. M. & Stanley, J. (2000). A unique virus complex causes *Ageratum* yellow vein disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 6890-6895.
- Saunders, K., Lucy, A. & Stanley, J. (1992). RNA-primed complementary-sense DNA synthesis of the geminivirus African cassava mosaic virus. *Nucleic Acids Research* 20, 6311-6315.
- Saunders, K., Norman, A., Gucciardo, S. & Stanley, J. (2004). The DNA beta satellite component associated with *ageratum* yellow vein disease encodes an essential pathogenicity protein (betaC1). *Virology* 324, 37-47.
- Saunders, K., Salim, N., Mali, V. R., Malathi, V. G., Briddon, R., Markham, P. G. & Stanley, J. (2002). Characterisation of Sri Lankan cassava mosaic virus and Indian cassava mosaic virus: Evidence for acquisition of a DNA B component by a monopartite Begomovirus. *Virology* 293, 63-74.
- Seal, S. E., Jeger, M. J. & Van den Bosch, F. (2006). Begomovirus evolution and disease management. *Plant Virus Epidemiology* 67, 297-316.
- Shepherd, D. N., Martin, D. P., van der Walt, E., Dent, K., Varsani, A. & Rybicki, E. P. (2010). Maize streak virus: an old and complex 'emerging' pathogen. *Molecular Plant Pathology* 11, 1-12.
- Simmons, A. T. & Gurr, G. M. (2005). Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology* 7, 265-276.
- Sinisterra, X. H., McKenzie, C. L., Hunter, W. B., Powell, C. A. & Shatters, R. G. (2005). Differential transcriptional activity of plant-pathogenic begomoviruses in their whitefly vector (*Bemisia tabaci*, Gennadius : Hemiptera Aleyrodidae). *Phytopathology* 86, 1525-1532.
- Storey, H. H. (1938). Investigation of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors II. The part played by puncture in transmission. *Proceedings of the Royal Society B* 125, 455-477.
- Sunter, G. & Bisaro, D. M. (1997). Regulation of a geminivirus coat protein promoter by AL2 protein (TrAP): evidence for activation and derepression mechanisms. *Virology* 232, 269-280.
- Swanson, M. M., & Harrison, B.D. (1994). Properties, relationships and distribution of cassava mosaic geminiviruses. *Tropical Science* 34, 15-25.

- Thierry, M., Becker, N., Hajri, A., Reynaud, B., Lett, J. M. & Delatte, H. (2011). Symbiont diversity and non-random hybridization among indigenous (Ms) and invasive (B) biotypes of *Bemisia tabaci*. *Molecular Ecology* 20, 2172-2187.
- Tiendrébéogo, F., Lefeuvre, P., Hoareau, M., Traore, V. S. E., Barro, N., Reynaud, B., Traoré, A. S., Konaté, G., Traoré, O. & Lett, J. M. (2009). Occurrence of East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) in Burkina Faso. *Plant Pathology* 58, 783-783.
- Tiendrébéogo, F., Lefeuvre, P., Hoareau, M., Villemot, J., Konaté, G., Traoré, A. S., Barro, N., Traoré, V. S., Reynaud, B., Traoré, O. & Lett, J. M. (2010a). Molecular diversity of cotton leaf curl Gezira virus isolates and their satellite DNAs associated with okra leaf curl disease in Burkina Faso. *Virology Journal* 7, 48.
- Tiendrébéogo, F., Traoré, V. S. E., Lett, J. M., Barro, N., Konaté, G., Traoré, A. S. & Traoré, O. (2010b). Impact of okra leaf curl disease on morphology and yield of okra. *Crop Protection* 29, 712-716.
- Tiendrébéogo, F., Lefeuvre, P., Hoareau, M., Harimalala, M. A., De Bruyn, A., Villemot, J., Traore, V. S. E., Konaté, G., Traoré, A. S., Barro, N., Reynaud, B., Traoré, O. & Lett, J. M. (2012). Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Virology Journal* 9.
- Uchibori, M., Hirata, A., Suzuki, M. & Ugaki, M. (2013). Tomato yellow leaf curl virus accumulates in vesicle-like structures in descending and ascending midgut epithelial cells of the vector whitefly, *Bemisia tabaci*, but not in those of nonvector whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *Journal of General Plant Pathology* 79, 115-122.
- Van den Heuvel, J. F. J. M., Bruyere, A., Hogenhout, S. A., Ziegler Graff, V., Brault, V., Verbeek, M., Van der Wilk, F. & Richards, K. (1997). The N-terminal region of the luteovirus readthrough domain determines virus binding to Buchnera GroEL and is essential for virus persistence in the aphid. *Journal of Virology* 71, 7258-7265.
- Van den Heuvel, J. F. J. M., Verbeek, M. & Van der Wilk, F. (1994). Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leafroll virus by *Myzus persicae*. *Journal of General Virology* 75, 2559-2565.
- Vanitharani, R., Chellappan, P. & Fauquet, C. M. (2005). Geminiviruses and RNA silencing. *Trends in Plant Science* 10, 144-151.
- Vanitharani, R., Chellappan, P., Pita, J. S. & Fauquet, C. M. (2004). Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. *Journal of Virology* 78, 9487-9498.
- Varsani, A., Monjane, A. L., Donaldson, L., Oluwafemi, S., Zinga, I., Komba, E. K., Plakoutene, D., Mandakombo, N., Mboukoulida, J., Semballa, S., Briddon, R. W., Markham, P. G., Lett, J. M., Lefeuvre, P., Rybicki, E. P. & Martin, D. P. (2009). Comparative analysis of *Panicum streak virus* and *Maize streak virus* diversity, recombination patterns and phylogeography. *Virology Journal* 6.
- Varsani, A., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Hernandez-Zepeda, C., Idris, A., Brown, J. K., Murilo Zerbini, F. & Martin, D. P. (2014). Establishment of three new genera in the family Geminiviridae: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* and *Turncurtovirus*. *Archives of virology*, in press.
- Varsani, A., Shepherd, D. N., Monjane, A. L., Owor, B. E., Erdmann, J. B., Rybicki, E. P., Peterschmitt, M., Briddon, R. W., Markham, P. G., Oluwafemi, S., Windram, O. P., Lefeuvre, P., Lett, J.-M. & Martin, D. P. (2008a). Recombination, decreased host specificity and increased mobility may have driven the emergence of maize streak virus as an agricultural pathogen. *Journal of General Virology* 89, 2063-2074.
- Varsani, A., Shepherd, D. N., Monjane, A. L., Owor, B. E., Erdmann, J. B., Rybicki, E. P., Peterschmitt, M., Briddon, R. W., Markham, P. G., Oluwafemi, S., Windram, O. P., Lefeuvre, P., Lett, J. M. & Martin, D. P. (2008b). Recombination, decreased host specificity and increased

- mobility may have driven the emergence of maize streak virus as an agricultural pathogen. *Journal of General Virology* 89, 2063-2074.
- Voigt, C. A., Martinez, C., Wang, Z. G., Mayo, S. L. & Arnold, F. H. (2002). Protein building blocks preserved by recombination. *Natural Structural Biology* 9, 553-558.
- Voinnet, O., Pinto, Y. M. & Baulcombe, D. (1999). Suppression of gene silencing: A general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 14147-14152.
- Warburg, O. H. (1894). Die kulturpflanzen usambaras. *Mitteilung Aus Den Deutschen Schutzgebieten* 7, 131.
- Yassin, A. M. & Nour, M. A. (1965). Tomato leaf curl disease in the Sudan and its relation to tobacco leaf curl. *Annals of Applied Biology* 56, 207-217.
- Zhou, X., Liu, Y., Calvert, L., Munoz, C., Otim-Nape, G. W., Robinson, D. J. & Harrison, B. D. (1997). Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *Journal of General Virology* 78, 2101-2111.
- Zhou, X., Robinson, D. J. & Harrison, B. D. (1998). Types of variation in DNA-A among isolates of East African cassava mosaic virus from Kenya, Malawi and Tanzania. *Journal of General Virology* 79, 2835-2840.
- Zinga, I., Chiroleu, F., Legg, J., Lefeuvre, P., Komba, E. K., Semballa, S., Yandia, S. P., Mandakombo, N. B., Reynaud, B. & Lett, J.-M. (2013). Epidemiological assessment of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of mixed viral infection and poor health of plant cuttings. *Crop Protection* 44, 6-12.
- Zinga, I., Harimalala, M., De Bruyn, A., Hoareau, M., Mandakombo, N., Semballa, S., Reynaud, B., Lefeuvre, P. & Lett, J.-M. (2012). East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) and African cassava mosaic virus (ACMV) reported for the first time in Central African Republic and Chad. *New Disease Reports* 26, 17.